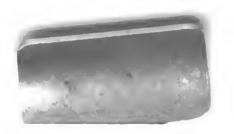
Archiv für Hygiene und Bakteriologie

image
not
available

image
not
available


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
LVX
FIAT
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

EINUNDSECHZIGSTER BAND.

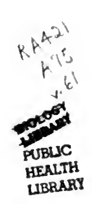
Mit 36 Abbildungen und 1 Tafel



MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1907.


KA421
A75
v.61
BIOLOGY
LIBRARY
PUBLIC
HEALTH
LIBRARY

Inhalt.

Die Wirkung des Sonnenlichtes auf pathogene Bakterien.

Von

Dr. **Richard Wiesner,**
Assistent am Institut.

(Aus dem patholog.-anatom. Institut der Wiener Universität. Vorstand: Hofrat Prof. Dr. A. Weichselbaum.)

Die schädigende Wirkung des Sonnenlichtes auf Mikroorganismen ist eine heute allgemein bekannte Tatsache. Diese Kenntnis verdanken wir Downs und Blunt([1]), welche die Beobachtung machten, dafs faulende Flüssigkeiten, beispielsweise Urin, nicht zersetzt werden oder die bereits begonnene Zersetzung unterbrochen wird, wenn sie längere Zeit im Lichte stehen. Durch diese Beobachtungen angeregt, stellten sie im Jahre 1877 systematische Untersuchungen mit solchen infizierten und zersetzungsfähigen Medien an und fanden ihre früher gemachten Beobachtungen auch im Experiment bestätigt. Schon diese Forscher hoben hervor, dafs die Wirkung des Sonnenlichtes auf Bakterien anscheinend eine heftigere ist als auf »mikroskopische Pilze, welche mit Fäulnis und Zersetzung einhergehen.« Angezweifelt wurde diese Entdeckung nur von Tyndall([3]), in einer späteren Publikation([4]) allerdings von diesem Forscher wieder zum Teile als richtig anerkannt. Die ungeheuere Fülle von Arbeiten, welche die Beobachtungen Downs und Blunts bestätigen, sind indes geeignet, diese ganz vereinzelte abweichende Beobachtung vollauf zu widerlegen.

Wie schon aus der zitierten Arbeit von Downs und Blunt andeutungsweise hervorgeht, findet sich diese geringe Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Lichte vornehmlich bei Bakterien, und heute können wir die Grenze noch enger ziehen und sagen, dafs unter den Spaltpilzen vornehmlich die tierpathogenen und tiersaprophytischen Bakterien (im weitesten Sinne) in ihrer Lebensenergie durch das Licht beeinflufst werden. Wissen wir doch, dafs in der freien Natur ungezählte Mengen von Bakterien — sog. Luftkeime — leben und dafs diese im Sommer an Zahl bedeutend zunehmen, also zu einer Zeit, wo die Wirkung des Lichtes am intensivsten ist! Wir müssen daher annehmen, dafs diese Keime dem Aufenthalt in der freien Natur angepafst, auch durch das Licht wenig oder überhaupt nicht alteriert werden; während die tierpathogenen und tiersaprophytischen Arten, für den Aufenthalt im tierischen Organismus, nicht aber für den Aufenthalt aufserhalb ihres natürlichen Trägers eingerichtet, der Einwirkung des Lichtes keinen wirksamen Widerstand zu leisten vermögen (vgl. Abschn. 14). Diese Beschränkung der desinfizierenden Wirkung des Sonnenlichtes auf pathogene resp. saprophytische Spaltpilze kann natürlich nicht eine ganz allgemeine Anwendung finden, da auch einzelne Sprofs- und Schimmelpilze, sowie einzelne Wasserbakterien oder beispielsweise Bact. prodigiosum durch das Licht geschädigt werden können.

Während im Anfang ausschliefslich die rein biologische Seite dieser Frage erforscht wurde, gewann dieselbe später besonders für den Hygieniker Bedeutung, indem zu erwarten war, auf diesem Wege manche Erscheinungen in der Natur einer Klärung zuführen zu können. So seien die Arbeiten Buchners(55) erwähnt, der auf Grund seiner Untersuchungen die »Sonnendesinfektion« als einen wichtigen Faktor bei der Selbstreinigung der Flüsse erklärte; ja, die bakterizide Kraft des Sonnenlichtes so hoch einschätzte, dafs er dessen Verwendung zur Desinfektion von Abwässern vorschlug. Schon früher machte Duclaux(19) auf die hygienische Bedeutung der Lichtwirkung auf Bakterien aufmerksam und erklärte das Sonnenlicht als das verbreitetste und

billigste Desinfizieus, so dafs wir für möglichst reichlichen Zutritt von Luft und Licht in unsere Wohnräume sorgen sollen. v. Esmarch[64] durch diese Untersuchungen angeregt, hegte die Hoffnung, mittels der Lichtstrahlen Operationsraum und das darin befindliche Mobiliar ohne Schädigung des Materials von Mikroben befreien zu können und veröffentlichte im Jahre 1894 eine Studie über Sonnendesinfektion, welche ihn allerdings zu wenig aufmunternden Resultaten führte, da es sich herausstellte, dafs Bakterien in und unter verschiedenen Geweben auch in relativ dünnen Schichten vom Lichte unbeeinflufst bleiben. Im Jahre 1898 wird die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes abermals zur Erklärung von hygienischen resp. epidemilogischen Fragen durch Berger[89] und Ruhemann[93,94] herangezogen. Besonders letzterer glaubte einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Epidemien (Influenza) einerseits und der Sonnenscheindauer anderseits, konstatieren zu können.

Schon frühzeitig wurden diese Experimente auf künstliche Lichtquellen, vor allem auf elektrisches Licht übertragen und ein gleicher wenn auch viel schwächerer Effekt als im Sonnenlichte nachgewiesen. Mit der Einführung der Lichttherapie durch Finsen lenkte sich das Interesse nahezu ausschliefslich auf die Wirkung des »konzentrierten« elektrischen Lichtes, bzw. der ultravioletten Strahlen und wurden therapeutische wie biologische Fragen in gleicher Weise zum Gegenstande eingehender Studien gemacht.

Mit der Entdeckung der Röntgenstrahlen[139], sowie der Becquerelstrahlen wurden die Versuche auch auf diese Strahlengattungen ausgedehnt, jedoch mit recht geringem Erfolg (vgl. Rufs[139], Aschkinas und Caspari[106]).

Das Hauptinteresse bei den meisten Forschern erweckte die Ergründung des wirksamen Prinzips im Sonnenspektrum resp. im Spektrum des elektrischen Bogenlichtes. Im allgemeinen bestand von Anfang an und besteht auch heute die Anschauung, dafs die am kräftigsten antibakteriell wirkenden Strahlen die kurzwelligen (ultravioletten) Strahlen sind. Neben diesem — ich möchte sagen — Leitmotiv nahezu aller Arbeiten

wurde noch eine Fülle von einschlägigen Detailfragen durchforscht, welche in den einzelnen nachfolgenden Abschnitten eine eingehendere Würdigung erfahren sollen.

Wenn auch die Beziehungen des Lichtes zu den Bakterien ein stark abgebautes Arbeitsfeld zu sein scheinen, so habe ich es dennoch vor drei Jahren unternommen, mich mit dieser Frage eingehender zu beschäftigen, da einerseits in den meisten Punkten bei den verschiedenen Forschern durchaus nicht eine volle Übereinstimmung herrscht und anderseits eine einheitliche Behandlung aller einschlägigen Fragen fehlt, von welcher aus erst eine erspriefsliche Beurteilung der Bedeutung der Sonnendesinfektion in der Natur — die heute vielfach stark unterschätzt wird — möglich ist.

Die vorliegende Arbeit soll sich ausschliefslich mit dem Verhalten tierpathogener Keime gegenüber dem Sonnenlichte beschäftigen und nur insofern nichtpathogene Bakterien oder künstliche Lichtquellen in den Bereich der Erwägung ziehen, als es eben für die Beurteilung der vorgezeichneten Aufgabe sich als notwendig erweist.

I. Bedeutung und Methode der Lichtintensitätsbestimmung.

Wenngleich Arloing(13), Gaillard(26), Raum(30), Kruse(80) und andere die Ansicht aussprachen, dafs die keimtötende Wirkung des Sonnenlichtes im geraden Verhältnis zur Intensität desselben steht, vermissen wir dennoch — ausgenommen die neueren Arbeiten mit künstlichen Lichtquellen — in allen einschlägigen Publikationen Angaben über Lichtintensitätsbestimmungen. Durchwegs wird als Mafs für die bakterizide Kraft des Sonnenlichtes die Zeit angegeben, nach welcher Tötung resp. Abschwächung der Keime eingetreten war. Nun wissen wir aber, dafs die Intensität des Sonnenlichtes nicht allein mit der geographischen Breite des Ortes sowie innerhalb der einzelnen Monate des Jahres mit wechselnder Sonnenhöhe stark differiert, sondern dafs auch während eines Tages die Intensitäten oft ganz extremen Schwankungen unterworfen sind. Es ist daher diese

Art der Bestimmung der keimtötenden Kraft des Sonnenlichtes durch Zeitangaben ganz unzuverlässig. Nach Duclaux (18) beispielsweise sind pathogene Kokken im direkten Sonnenlicht in den Monaten Mai und Juni nach 40 Tagen, im Juli nach 15 Tagen abgestorben. Chmelewsky (53) hinwiederum findet Eiterkokken im Sonnenlicht bereits nach 6 Stunden vollständig abgestorben und Dieudonné (73) gibt für Bact. prodigiosum und Bac. typhi als Abtötungszeit im direkten Sonnenlicht 1½ Stunden in den Monaten März, Juli und August an. Diese drei willkürlich herausgegriffenen Beispiele illustrieren hinlänglich, wie mangelhaft die bakterizide Kraft des Sonnenlichtes durch einfache Angabe der Abtötungszeit charakterisiert ist. Allerdings werden diese Experimente durch mannigfache Momente, wie z. B. durch die Art der verwendeten Bakterien, durch das Suspensionsmedium u. v. a. beeinflufst, in erster Linie ist aber die jeweilig einwirkende Lichtintensität für das Resultat der Bestrahlung mafsgebend und diese wiederum läfst sich nicht durch Angabe des Monates oder der Tageszeit sowie der Expositionsdauer bestimmen, da sie, wie bereits hervorgehoben, innerhalb eines Jahres, eines Monates, ja innerhalb eines Tages beträchtlichen Schwankungen unterworfen ist. Auch innerhalb der einzelnen Jahre schwankt die Lichtintensität mitunter sehr beträchtlich. So wurde beispielsweise am 27. Januar 1894 um 12 Uhr mittags eine chemische Intensität von $I = 0{,}192$ gemessen[1]), während ich selbst im Januar des Jahres 1904 mittels der später zu besprechenden recht empfindlichen Methode der Intensitätsbestimmung infolge zu geringer Intensitäten überhaupt keine Messungen ausführen konnte! Die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes im Jahre 1894 kann daher unmöglich mit jener des Jahre 1904 identifiziert werden! Anderseits gelingt es nicht schwer nachzuweisen, dafs an einzelnen Tagen der 12 Monate des Jahres gleiche Lichtintensitäten herrschen, daher auch die Strahlen-

1) Diese Angabe entnehme ich der Arbeit des Pflanzenphysiologen J. Wiesner (87)) ›Untersuchungen über das photochemische Klima von Wien, Kairo und Buitenzorg‹.

wirkung an solchen Tagen eine ähnliche sein kann. Der früher zitierten Arbeit[1]) entnehme ich folgende Werte der photochemischen Intensitäten, um 12 Uhr mittags:

25. II. 1894: I = 0,322
7. III. 1894: I = 0,370
24. IV. 1894: I = 0,333
4. VI. 1893: I = 0,333
17. VII. 1893: I = 0,366
7. IX. 1893: I = 0,333
5. XI. 1893: I = 0,333.

Nach Dieudonné([73, 13]) besitzt die Märzsonne eine gleiche desinfizierende Kraft wie die Sonne im Juli und August. Diese irrtümliche Ansicht Dieudonnés wird sich aus den eben angeführten Verhältnissen erklären lassen, indem es wahrscheinlich der Zufall wollte, dafs dieser Autor im März, Juli und August an Tagen gleicher Intensität experimentierte. Die mittlere Lichtintensität ist aber (und mufs es aus physikalischen Gründen sein) im Juli und August eine viel höhere als im März, so dafs eine solche Verallgemeinerung nicht angängig ist.

Anderseits aber schwankt die Lichtintensität (infolge wechselnder Bewölkung) oft innerhalb weniger Stunden und Minuten so stark, dafs Raum([30]) mit vollem Recht bei lichtbiologischen Studien eine wiederholte Intensitätsbestimmung fordert. Am 31. Juli 1905 habe ich z. B. in der Zeit von 3 bis ½ 6 Uhr nachmittags folgende photochemischen Intensitäten gemessen:

3 Uhr	$S_4 B_9$ [2])	0,333
3 Uhr 10 Minuten .	$S_0 B_9$	0,083
3 Uhr 30 Minuten .	$S_0 B_9$	0,142
4 Uhr	$S_4 B_6$	0,588
4 Uhr 30 Minuten .	$S_4 B_2$	0,333
5 Uhr	$S_0 B_{10}$	0,090
5 Uhr 30 Minuten .	$S_0 B_{10}$	0,030

1) S. vor. Seite.

2) Die Bedeutung dieser Abkürzungen siehe S. 8.

Solche systematische Lichtintensitätsmessungen bieten uns nicht allein die Möglichkeit einer exakten Bestimmung der jeweiligen bakteriziden Kraft des Sonnenlichtes, sondern gewinnen auch in einer anderen Richtung Bedeutung, indem nur auf diese Weise das krasse Mifsverhältnis zwischen der Lichtintensität im Freien und in unseren Wohnräumen aufgedeckt wird. Am 18. XI. 1904 betrug um $^1/_2$ 10 Uhr vormittags die photochemische Intensität im Hofe vor meinem nach Südost gelegenen Arbeitszimmer bei klarem Himmel **I = 0,125**, während die Intensität knapp hinter dem Fenster gemessen **I = 0,018** und jene 3,8 m vom Fenster entfernt im Zimmer nur mehr **I = 0,002** betrug[1]). Es verhalten sich daher die Lichtintensitäten im Freien zu jenen in meinem Zimmer knapp hinter dem Fenster und 3,8 m vom Fenster entfernt wie 1 : 6,9 : 62. Wenn auch ähnliche Bestimmungen der Lichtmengen in Wohnräumen schon wiederholt vorgenommen wurden [z. B. von Boubnoff (55)], so fehlt doch meines Wissens der Hinweis auf den Zusammenhang der natürlichen Desinfektion (Lichtdesinfektion) solcher Räume und der in denselben herrschenden Lichtintensitäten. Nehmen wir den günstigen Fall an, es herrsche im Freien eine Intensität von I = 1,000, so würde die Intensität in meinem Arbeitszimmer am Fenster ca. 0,144 betragen, 3,8 m vom Fenster entfernt nur mehr 0,016. Eine chemische Intensität von I = 1,000 vermag z. B. in ca. 2—2$^1/_2$ Stunden Staphylokokken sicher abzutöten, während eine Intensität von I = 0,144 selbst nach siebenstündiger Einwirkung nur ca. 40 % der Keime zu vernichten imstande ist (vgl. Abschn. 16). Solche Intensitäten werden aber nur während relativ kurzer Zeit im Zimmer herrschen, so dafs die bakterizide Wirkung des Lichtes in geschlossenen Räumen ungemein gering oder gleich Null sein wird. Wenn wir daher für unsere Wohnräume mit Recht reichlichen Zutritt von Licht fordern, so dürfen wir uns darüber nicht täuschen, dafs die Wirkung desselben sich hauptsächlich auf unser somatisches Wohlbefinden geltend macht, eventuell durch die gröfseren Fensteröffnungen

1) Die Fensterfläche dieses Raumes beträgt 1,80 × 2,30 m, der Flächeninhalt des Raumes selbst 3,42 × 7 m.

eine ausgiebigere Ventilation unserer Wohnräume ermöglicht, sowie Feuchtigkeit aus denselben fernehält, nicht aber, dafs durch relativ reichlicheren Zutritt von Licht (im Sinne des Laien) eine nennenswerte Desinfektion dieser Räume bedingt wird.

Nach diesem Hinweis auf die mehrfache Bedeutung der systematischen Intensitätsmessungen des Lichtes soll im nachfolgenden auf die Methode der Intensitätsbestimmung näher eingegangen werden.

Die Messungen wurden durchwegs mit einer von Bunsen und Roscoe im Jahre 1866 angegebenen, später von Bunsen, Stelling u. a. modifizierten Methode durchgeführt, die auf der Bestimmung der photochemischen Intensität des Sonnenlichtes beruht. Diese Methode erfuhr in neuerer Zeit durch J. Wiesner eine derartige Verbesserung, dafs sie sich neben ihrer Exaktheit durch eine höchst einfache Handhabung auszeichnet. Das Prinzip des Verfahrens besteht darin, dafs mittels eines lichtempfindlichen Papiers (Normalpapier) und jener Zeit, welche verstreicht bis dieses dem Lichte exponierte Papier jenen Schwärzungsgrad erreicht, der einem von Bunsen-Roscoe fixierten Farbenton (»Normalton«) entspricht, die photochemische Intensität berechnet wird folgend dem von diesen Forschern aufgestellten Satze, »dafs innerhalb weiter Grenzen gleichen Produkten aus Beleuchtungszeit ($t t^1$) und chemischer Lichtintensität ($I I^1$) eine gleiche Schwärzung des Normaltons entspricht. $I t = I^1 t^1$ bei gleicher Schwärzung des Normalpapieres«. Man bedarf daher für solche Messungen nur eines empfindlichen photographischen Papiers, des Normaltons und einer Sekundenuhr und erhält den Wert der photochemischen Intensität aus der Formel $I = \frac{1}{x}$ wobei für x die Zahl der Sekunden resp. Minuten einzusetzen ist, welche von Beginn der Exposition bis zum Eintritt einer dem Normalton entsprechenden Schwärzung des photographischen Papieres verstrichen ist. Die näheren Details dieser Methode finden sich bei J. Wiesner (70). Erwähnt sei noch, dafs zu solchen Messungen ein selbstbereitetes (sehr empfindliches) photographisches Papier verwendet werden soll. Da dieses Papier aber sehr empfindlich und unsere Laboratoriumsluft mit Ammoniakdämpfen stark geschwängert ist, mufste ich mich mit käuflichem photographischen Papier[1]) behelfen und vor Benützung eines jeden Pakets dieses Papier mit selbstbereitetem vergleichen, um einen eventuellen Fehler in der Lichtempfindlichkeit rechnerisch ausgleichen zu können.

---

1) Auf den Rat J. Wiesners verwendete ich das bei der Wiener Firma A. Moll erhältliche Vindobona-Celloidinpapier matt, welches sich als am gleichmäfsigsten bereitet und sehr lichtempfindlich erwies.

Die Abkürzungen S_0 B_{10} etc. bedeuten: Der Horizont ist in zehn gleiche Sektoren geteilt zu denken. Je nachdem der Horizont ganz wolkenfrei ist

Wenngleich durch Bestimmung der chemischen Lichtintensität nicht die Gesamtintensität des Lichtes ermittelt wird, sind solche Messungen dennoch verwertbar, da sie das Verhältnis der Lichtintensitäten in den einzelnen Versuchen einfach und doch mit genügender Sicherheit wiedergeben.

Aufser diesen Messungen der chemischen Intensität machte ich bei meinen Versuchen noch mittels eines Strahlungsthermometers Bestimmungen der Wärmestrahlung. Überdies wurde stets die Lufttemperatur im Schatten sowie die Lufttemperatur im Innern der Versuchskästchen oder der Suspensionsflüssigkeiten kontrolliert.

2. Methoden.

Die mannigfache Variation der Methodik, der wir bei den Experimenten der einzelnen Forscher begegnen, sowie die oft divergenten Resultate fordern eine eingehendere Besprechung der verwendeten Versuchsanordnungen zumal bei so subtilen Experimenten, wie sie die vorliegende Frage oft erheischt, eine unzweckmäfsige Methode zu groben Irrtümern führen kann.

Bei den ersten Experimenten, bei welchen mit Bakteriengemengen experimentiert wurde, standen meist Aufgüsse, wie Heu-, Runkelrüben- oder Gurkeninfuse (Downs und Blunt (1)), Tyndall (3)) oder spontan infizierte Flüssigkeiten wie Urin (Downs und Blunt (1)) in Verwendung. Auch wässeriger Syruplösungen bedienten sich die genannten Forscher. Ferners seien Versuche erwähnt, die mit flüssigen Nährlösungen, wie neutralisierter Pasteur'scher (Downs und Blunt (1, 2)) oder Kohn'scher Nährlösung (Jamieson (5)) angestellt wurden. Arloing (10) (14), Duclaux (18), Straufs (23), Janowski (36), Momont (32), Bie (133), und Kruse (80) benutzten bei ihren Untersuchungen Bouillonaufschwemmungen, die in den verschiedensten Glasbehältern dem Sonnen- oder elektrischen Lichte ausgesetzt wurden, während Pansini (35), Kruse (80), Bang (115) u. a. diese

(B_0) oder aber x Zehntel desselben mit Wolken bedeckt sind, wird dies durch die Kürzung B_1 bis B_{10} ausgedrückt.

S_0 = Sonne vollständig bedeckt.

S_1 = Sonne nur als heller Schein am Horizont sichtbar.

S_2 = Sonne als Scheibe am Himmel zu sehen.

S_3 = Sonne nur von leichtem Dunst oder einem zarten Wolkenschleier bedeckt.

S_4 = Sonne vollkommen unbedeckt erscheinend.

Aufschwemmungen in Form des hängenden Tropfens auf gehöhlten Objektträgern in Anwendung brachten. Nur vereinzelt stand die Kartoffelkultur bei den vorliegenden Versuchen in Gebrauch so bei Laurent(40), Koltjar(50) und Pansini(35), bei letzterem junge aber bereits ausgewachsene Kulturen, während sonst in der Regel die Lichtwirkung auf frisch ausgesäte Keime studiert wurde. In ausgedehnter Verwendung standen unter den festen Nährsubstraten Gelatine und Agar, und zwar sowohl als Strichplatte als auch als Gufsplatte oder in Eprouvetten, schief erstarrt mit Oberflächenimpfung und endlich auch als Gelatinestichkultur. Dabei waren die Kulturplatten meist umgestürzt aufgestellt, so dafs die Sonnenstrahlen auf ihrem Wege zu den Bakterien Glas und die Schichte des Nährmaterials passieren mufsten. Eine weitere Serie von Experimenten wurde mit Keimaufschwemmungen in Wasser ausgeführt und zwar entweder in sterilisiertem Leitungs- resp. Flufswasser (Buchner(46)(47), Momont(53), Palermo(79), Bie(121)(133) oder in teils sterilisiertem teils nicht sterilisiertem destillierten Wasser (Downs und Blunt(2), Straufs(23), Martinand(42), Buchner(45), Ward(58), Kruse(80), Bie(131)(135), Jansen(129)). Alle diese Keimaufschwemmungen fanden endlich noch Verwendung, indem sie auf Deckgläschen und Eprouvetten oder an Seidenfäden, Filterpapier und anderen Geweben angetrocknet wurden. Die Antrocknung geschah entweder an der Luft im Thermostaten oder im Exsikkator mittels Chlorkalzium. Um alle bisher verwendeten Versuchsmethoden zu erschöpfen, seien noch die Experimente von Masella(76), Drigalski(99) und weniger anderer erwähnt, welche subkutan geimpfte Mäuse und Meerschweinchen der Einwirkung des Sonnen- resp. elektrischen Lichtes exponierten.

Zu diesen Experimenten wurden die verschiedensten Spalt-, Sprofs- und Schimmelpilze verwendet. Das Alter der verwendeten Keime schwankte ebenso wie die Art der Bakterien. Die Kontrollierung der Versuchsresultate geschah zumeist mit dem freien Auge, indem gutes Wachstum oder vollständiges Ausbleiben desselben (Sterilisation) als extremste Fälle verzeichnet wurden, als Zwischenstufen Verlangsamung des Wachstums (Schwächung) oder Verdünnung« (Bang) aufgestellt wurde. Ein anderer, oft benutzter Weg war, dafs zu den Experimenten pigmentbildende Keime, wie Bact. prodigiosum oder Bac. pyocyaneus herangezogen wurden und aus der abnehmenden oder fehlenden Pigmentbildung auf Schädigung der Bakterien durch das Licht geschlossen wurde. In einer geringen Zahl von Experimenten nach der Gufsplattenmethode endlich wurde das Versuchsresultat durch Keimzählungen (Buchner(45), Jansen(135), Kruse(80), Ward(58), Bie(131)) bestimmt.

Von allen diesen Verfahren ist, wie schon Bie(131) bemerkt, die einzige verläfsliche Methode jene, bei welcher das Versuchsresultat durch Keimzählung festgestellt wird. Ich konnte mich wiederholt überzeugen, dafs nur auf diesem Wege verläfsliche Resultate zu erlangen sind, während bei subjektiver Beurteilung der Versuche mit dem unbewaffneten Auge sicher nur die

extremsten Fälle — Wachstum oder Sterilisation — erkannt werden können, alle Zwischenstadien sich aber unserer Beurteilung entziehen. Auf die Unzweckmäfsigkeit der Verwendung von verschieden gestalteten Glasgefäfsen (Kolben, Eprouvetten etc.) wurde schon früher durch Roue [24] und Bie [102] aufmerksam gemacht, da durch die sphärisch gekrümmten Glaswände eine ungleichmäfsige und mitunter bedeutende Refraktion und Beugung der Lichtstrahlen veranlafst wird. Ein vergleichender Versuch soll den Einflufs sphärisch gekrümmter Glasgefäfse auf den Verlauf von Belichtungsversuchen illustrieren.

Versuch 257. 20. VII. 1906.

Bouillonaufschwemmung einer 20 stündigen Kultur von Staphylococcus pyogenes aureus. Die Hälfte dieser Suspension wurde in eine Eprouvette, die andere Hälfte in ein Glasschälchen gefüllt, welches mit einer 0,8 mm dicken Glasplatte bedeckt war.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemper. im Schatt.	Temp.-Bouillon	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Keimzahlen	
						Eprouvette	Glasschale
0	44,0	25,5	31,0	S_4 B_0	1,250	38,220	38,220
1	48,4	26,6	33,8	S_4 B_0	1,027	25,200	8,400
2 1/4	43,4	27,0	28,0	S_4 B_6	0,685	22,260	2,940

Aus diesen Keimzahlen (Ordinaten) und den Expositionszeiten (Abscissen) wurden nachstehende Kurven konstruiert:

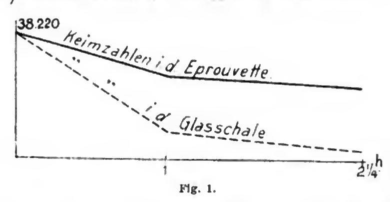


Fig. 1.

Ja, unter Umständen kann die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes durch die Wirkung von sphärischen Glasflächen derart geschwächt werden, dafs es in den mit Bouillonaufschwem-

mungen gefüllten Eprouvetten während der Versuche sogar zu einer Keimvermehrung kommt. Wir dürfen eben nicht vergessen, dafs die Sonne belichtend und erwärmend wirkt und dafs eine das Wachstum begünstigende Temperaturerhöhung in der Bouillon sich mitunter stärker geltend machen kann als die bakterientötende Wirkung der Strahlen. die eben auf ihrem Wege zu den Bakterien bei solchen Versuchen zum grofsen Teile unwirksam gemacht werden.

Versuch 249. 27. VI. 1906.
Bouillonaufschwemmung einer 6stündigen Typhuskultur in Eprouvette exponiert.

Exposit.-Dauer in Stunden	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Temperatur der Bouillon	Bewölkung	Chemische Licht-Intensität	Keimzahl
0	44,1	—	32,5	S_4 B_0	1,000	144,900
1/2	47,4	26,0	36,0	S_4 B_0	1,000	84,000
1 1/2	47,8	26,5	35,4	S_4 B_0	0,788	124,740
2	46,9	26,5	37,6	S_4 B_0	0,847	176,400
3	46,8	26,5	37,5	S_4 B_0	0,744	317,100

Es sind daher Versuche, bei welchen Bouillonaufschwemmungen in gekrümmten Glasgefäfsen dem Lichte exponiert werden, als höchst ungenau und unzuverlässig zu bezeichnen und wir werden bei unseren Experimenten von deren Verwendung nach Tunlichkeit absehen müssen.

Sind Bakteriensuspensionen für unsere Zwecke überhaupt vorteilhaft? Um diese Frage zu beantworten, wird es notwendig sein, zuerst Nachschau zu halten, wie Bakterien die Aufschwemmung in den verschiedenen zur Suspension verwendeten Flüssigkeiten vertragen. Es sind das, abgesehen von den üblichen Nährlösungen, destilliertes Wasser, sterilisiertes Leitungs- und Flufswasser, Zuckerlösungen und isotone Kochsalzlösungen (0,9 %). Für alle diese Medien gilt in gleicher Weise, dafs sie Bakterien gegenüber durchaus nicht als indifferent, sondern in wechselnder Intensität als bakterizid wirkend anzusehen sind. Bereits Frankland-Ward (43) machten darauf aufmerksam, dafs das Wasser bei der Sterilisation, auf welche Weise auch immer dieselbe

durchgeführt wird, in seiner chemischen und physikalischen Zusammensetzung Veränderungen erfährt, durch welche das sterilisierte Wasser zu einem für Bakterien schädlichen Medium verwandelt wird. In noch viel höherem Maſse gilt dies für das destillierte Wasser. »Ja man glaubt — sagt Ficker(88) auf Grund seiner eingehenden Studien — sogar eine besondere Sorgfalt bei Versuchsanordnungen walten zu lassen, wenn man ganz reines destilliertes Wasser zu Keimsuspensionen in Verwendung brachte. Daſs unter dieser Beeinflussung nicht wenige Resultate von Desinfektions- oder Erwärmungsversuchen, von Keimzählungen bei mannigfachen Gelegenheiten getrübt sein mögen, ist zum mindesten sehr wahrscheinlich.« Da wir der Verwendung solcher Suspensionsmedien bei Belichtungsversuchen wiederholt begegnen, war es für mich von Interesse zu erfahren, innerhalb welcher Zeit sich diese bakterizide Wirkung geltend macht, und ob sie bereits innerhalb der bei unseren Experimenten währenden Versuchsdauer einen bemerkenswerten Einfluſs ausüben. Diese orientierenden Versuche wurden mit, durch Kochen sterilisiertem Leitungswasser, sowie mit sterilisiertem destillierten Wasser bei Zimmertemperatur und Lichtabschluſs vorgenommen. Nach bestimmten Intervallen wurde mit einer geaichten Platinöse aus jeder Suspension je eine Probe entnommen und diese in der gebräuchlichen Weise zu Agargufsplatten verarbeitet.

Versuch 161 und 176. 5. XII. 1905 und 19. II. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alt. Aufschwemmung 1. in destilliertem Wasser, 2. in sterilisiertem Leitungswasser.

Versuchsdauer	Destilliertes Wasser		Sterilisiertes Leitungswasser
	Versuch A	Versuch B	
0	193 200	193 2000	441 000
5 Minuten . .	132 720	133 140	—
10 Minuten . .	—	—	420 000
15 Minuten . .	103 320	98 700	—
20 Minuten . .	—	—	420 000
30 Minuten . .	87 360	89 040	—
40 Minuten . .	—	—	382 200
1 Stunde . . .	—	—	361 200
2 Stunden . .	92 400	73 920	143 640
3 Stunden . .	79 800	75 600	—
4 Stunden . .	—	—	159 600

Dieser Tabelle entnehmen wir, dafs schon nach 5 Minuten eine deutliche Keimzahlverminderung eingetreten ist, die nach 3 Stunden mehr als zwei Drittel der eingesäten Keimmenge betrug. Ebenso findet auch im sterilisierten Leitungswasser bereits nach 10 Minuten eine merkliche Keimverminderung statt und nach 2 Stunden ist bereits mehr als die Hälfte der ursprünglichen Keimmenge zugrunde gegangen! Diese Zahlen machen eine weitere Kritik der mit destilliertem oder sterilisiertem Wasser ausgeführten Experimente überflüssig. Die bakterizide Wirkung von Kochsalzlösungen wurde von A. Fischer ([101]) nachgewiesen; die bakterienschädigende Wirkung von höherprozentigen Zuckerlösungen durch Wasserentziehung ist ebenfalls seit langem bekannt. Aber auch schwache Zuckerlösungen, wie die von Bie ([136]) verwendeten, haben hohe desinfizierende Eigenschaft, wofür die nachfolgende Tabelle als Illustration dienen möge.

Versuch 176. 19. II. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alt, Suspension in 5 proz. Traubenzuckerlösung. Versuchsdurchführung wie bei dem früheren Experiment.

Versuchsdauer	Keimzahl 5 proz. Traubenzuckerlösung
0	562 800
10 Minuten .	415 800
20 Minuten .	348 600
40 Minuten .	285 600
1 Stunde . .	323 400
2 Stunden .	235 200
4 Stunden .	205 800

Alle angeführten Suspensionsmedien sind also für exakte Versuche nicht zu verwerten, so dafs von flüssigen Medien nur mehr die gebräuchlichen Nährlösungen (Bouillon, Peptonwasser etc.) erübrigen. Aber auch bei diesen machen sich mannigfache Ungenauigkeiten bemerkbar, ich erwähne nur den schon mehrmals hervorgehobenen Übelstand, dafs die Bakterien sich in verschieden tiefen Schichten befinden, wodurch die Keime für die Lichtstrahlen ungleichmäfsig zugänglich sind, sowie die starke Absorption gewisser Teile des Sonnenspektrums (Ultraviolett)

durch Bouillon und Peptonlösungen. In der Tat zeigen auch Versuche, dafs Bakterien in solchen Flüssigkeiten langsamer abgetötet werden als bei oberflächlicher Aussaat auf festen Nährböden.

Versuch 105. 26. VI. 1905.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alt. Bouillonaufschwemmung a) in Eprouvette exponiert, b) auf den Oberflächen von Agarplatten mit dem Platinspatel verstrichen.

Exposit.-Dauer	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Agarstrichkultur	Eprouvette mit Bouillon-aufschwemmung
0	$S_4 B_0$	1,111	sehr üppig	46 200
1/2 Stunde	$S_4 B_0$	1,000	0	47 460
1 Stunde	$S_4 B_0$	1,009	0	46 200
2 Stunden	$S_4 B_0$	0,835	0	43 200
3 Stunden	$S_4 B_0$	0,673	0	66 360

Auch wenn ich die Bouillonaufschwemmungen in Glasschälchen ausgofs, trat die Abtötung von Bakterien auf der Agaroberfläche unvergleichlich rascher ein als in den Bouillonaufschwemmungen.

Diese Experimente leiten uns auf andere oft verwendete Versuchsmethoden, bei welchen feste Nährböden als Vehikeln für die Bakterien benutzt wurden. Es sind dies in erster Linie Agar und Gelatine, sei es mit oberflächlicher Impfung, sei es mit gleichmäfsiger Verteilung der Keime im erstarrten Nährboden. Ein Versuch wird uns über die Vor- und Nachteile dieser Methoden unterrichten.

Versuch 105. 26. VI. 1905.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alt.

Expositionsdauer	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Agargufs-platte	Agarstrich-platte
0	$S_4 B_0$	1,111	50 400	sehr üppig
1/2 Stunde . .	$S_4 B_0$	1,000	37 800	0
1 Stunde . .	$S_4 B_0$	0,916	spärlich	0
1 1/2 Stunden .	$S_4 B_0$	0,625	spärlich	0
2 Stunden .	$S_4 B_0$	0,835	spärlich[1])	0
2 1/2 Stunden .	$S_4 B_0$	0,270	spärlich[1])	0

1) Nur am Rand der Platte Keime angegangen, wahrscheinlich infolge Schwächung der Lichtstrahlen durch den Glasrand der Petrischale!

Das langsamere Zugrundegehen der Keime in Agargufsplatten kann nur auf einer Schwächung der Lichtstrahlen beim Durchtritt durch den Agar beruhen. Es kann daher auch diese Methode nicht als eine fehlerfreie bezeichnet werden. Der Methode mit Oberflächenimpfung auf Agarplatten haftet bei allen sonstigen Vorteilen als Mangel an, dafs eine Keimzahlbestimmung, die wir ja als eine unerläfsliche Forderung bezeichnet haben, nicht möglich ist. Das Angeführte gilt in gleicher Weise für Gelatine, welche überdies wegen ihres niedrigen Schmelzpunktes und der Verflüssigung durch peptonisierende Bakterien nicht verwendbar ist.

Eine Nebeneinanderstellung dieser Versuche möge den Einflufs der Methode auf die jeweiligen Versuchsresultate veranschaulichen und gleichzeitig als Erklärung für die oft divergenten Resultate der einzelnen Forscher dienen.

Versuch 105. 26. VI. 1905.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alt.

Expositionsdauer	Bewölkung	Chem. Licht-intensität	Agarstrichplatte	Agargufsplatte	Steriles Wasser in Eprouvette	Bouillon in Eprouvette
0	$S_4\,B_0$	1,111	sehr üppig	50 400	57 120	46 200
$^1/_2$ Stunde	$S_4\,B_0$	1,000	0	37 800	50 400	47 460
1 Stunde	$S_4\,B_0$	0,916	0	spärlich	47 880	46 200
$1^1/_2$ Stunden	$S_4\,B_0$	0,625	0	spärlich	37 800	—
2 Stunden	$S_4\,B_0$	0,835	0	spärlich	30 240	43 260
$2^1/_2$ Stunden	$S_4\,B_0$	0,270	0	spärlich	21 000	66 360
3 Stunden	$S_4\,B_0$	0,263	0	spärlich	6 300	66 360

Es erübrigt noch die Methode mit angetrockneten Bakterien kurz zu besprechen. Antrocknungen von Bakterien an Seidenfäden, Filterpapier oder an den Wänden von Eprouvetten sind für unsere Zwecke gänzlich unbrauchbar, da eine grofse Zahl von Keimen durch ihre Lagerung innerhalb der Gewebe resp. hinter sphärisch gekrümmten Glaswänden der Strahleneinwirkung vollkommen oder zum grofsen Teile entzogen werden. Aber auch die Verwendung von an der Oberfläche von Glasscherben an-

getrockneten Bakterien ist nicht praktikabel, da die Antrocknung schon an und für sich eine Schädigung resp. Vernichtung der Bakterienleiber zur Folge hat [siehe Ficker(88)], so dafs dieser Versuchsmodus einer gesonderten Untersuchung bedarf.

Wie sollen wir nun unsere Versuche einrichten, damit alle Mängel der angeführten Methoden umgangen werden und die Ergebnisse unserer Versuche mit Sicherheit ausschliefslich auf die Wirkung des Sonnenlichtes bezogen werden können? Um dies zu erreichen, müssen folgende Bedingungen erfüllt werden:

1. Ungehinderte und gleichmäfsige Zugänglichkeit aller exponierten Keime für die Lichtstrahlen und zwar während der ganzen Versuchsdauer;
2. möglichste Vermeidung von Absorption und Refraktion der Lichtstrahlen auf ihrem Wege zu den Bakterien;
3. Unterbringung der Keime während der Versuche in einem Vehikel, welches in bezug auf das Bakterienleben als absolut unschädlich anzuerkennen ist;
4. Hintanhaltung der Austrocknung der Bakterien während der Versuche, und
5. Möglichkeit einer exakten Keimzählung zur Bestimmung der Versuchsresultate.

Der Forderung sub 1 und zum Teil auch sub 2 werden wir gerecht, wenn die Bakterien sich stets auf der Oberfläche des betreffenden Vehikels befinden. Die Hintanhaltung der Absorption einzelner Strahlenkomplexe wird wohl kaum je ganz gelingen, da wir keine Substanz kennen, die in gleicher Weise alle Abschnitte des Sonnenspektrums durchtreten läfst (siehe Abschn. 8) uud wir die Bakterien wegen Verunreinigung durch Luftkeime nicht unbedeckt dem Sonnenlicht exponieren können. Diese Fehlerquelle einer teilweisen Schwächung der Lichtintensität durch partielle Absorption (Glas) wird daher bei unseren Versuchen stets zu berücksichtigen sein! Hinsichtlich des Punktes 3 mufs ich auf folgende Tatsache aufmerksam machen: Mit steigender Temperatur steigt auch die Dissimilation der Bakterien. Stehen daher den Bakterien bei erhöhter Temperatur nicht oder nicht

genügend präformierte Nährstoffe zur Verfügung, so gehen diese infolge mangelnder Assimilation rasch zugrunde. Da die Sonne gleichzeitig erwärmend wirkt und wir zunächst die Gesamtwirkung des Sonnenlichtes studieren wollen, werden wir bei unseren Versuchen mit dieser Tatsache rechnen müssen und Sorge tragen, dafs die die Bakterien beherbergenden Vehikel in genügender Menge mit Nährmaterial versehen sind.

Um allen diesen Anforderungen gerecht zu werden, brachte ich bei meinen Versuchen eine von Bie seinerzeit gebrauchte und von mir modifizierte Methode in Anwendung, welche darin bestand, dafs ich aus leicht getrockneten Agarplatten (durch 24 stündigen Aufenthalt im Brutschrank) mit einem sterilen Platinspatel kleine Würfel mit einer Seitenlänge von ca. 1 cm herausschnitt und diese auf kleine sterile Deckgläschen auflegte. Auf diese Agarwürfel wurde vor Beginn der Versuche mittels Kapillarpipetten gleichgrofse Tropfen einer Bakteriensuspension in Bouillon aufgetropt und die Tropfen durch Neigen der Agarwürfel gleichmäfsig über die ganze Oberfläche der Würfeln verteilt. Diese frischbeimpften Proben wurden in runden sterilisierbaren doppelwandigen Zinkblechtrommeln derart untergebracht, dafs das gesamte Oberlicht ungehindert zutreten konnte. Diese Behälter waren durch einen gefensterten Deckel abgeschlossen und durch Einlegen von angefeuchteten Filterpapierlagen als feuchte Kammern adaptiert. In den Deckel war eine 0,8 mm dicke Spiegelglasplatte eingekittet. Nach bestimmten Bestrahlungszeiten wurde mit einer sterilen Pinzette je eine solche Bakterienprobe dem Behälter entnommen, auf den Agarwürfel ein Bouillontropfen aufgetropft und mittels dieses und eines kleinen Platinspatels durch Verreiben das Keimmaterial möglichst gründlich von seiner Unterlage aufgeweicht. Sodann kamen die Agarwürfeln in fingerhoch mit Bouillon gefüllte Eprouvetten und wurden an einem lichtgeschützten kühlen Orte bis zum Schlusse des ganzen Versuches aufbewahrt. Nach Beendigung des Versuches fertigte ich mit diesen Bouillonaufschwemmungen in der üblichen Weise Agargufsplatten an und bestimmte nach 24 resp. 48—72 stündigem Verweilen derselben im Brutschrank unter dem

Mikroskope in der gewöhnlichen Weise die Keimzahlen. Vor Beginn des Versuches, wenn nötig auch nach Beendigung desselben, fertigte ich in derselben Weise Kontrollplatten an. Die im nachfolgenden angestellten Versuche wurden mit wenigen Ausnahmen nach dieser Methode ausgeführt. Der Ort der Experimente war ein im obersten Stockwerk des pathologischen Institutes gelegener grofser Raum mit reichlichem freien Horizont. Die Versuchsobjekte waren daselbst vor einem nach Südwest gelegenen geöffneten Fenster aufgestellt, auf welches während der Zeit von ½12—6 Uhr nachmittags die direkte Sonne fiel.

3. Hat die Keimmenge einen Einflufs auf die Abtötung von Bakterien durch das Licht?

Die Bedeutung der Keimmengen für den zeitlichen Verlauf der Lichtdesinfektion wurde unter anderem von Janowski(36), Palermo(48), Kirstein(116) und Kruse(80) untersucht. Sie alle stimmen darin überein, dafs bei Anwesenheit gröfserer Keimmengen in einem bestimmten Volumen die Bakterienabtötung durch das Licht entsprechend langsamer verlaufe. Dieser Satz ist nach Kruse ohne weiteres klar, wenn die Bakterien so dicht gedrängt sind (Massenkulturen), dafs sie nicht alle gleichmäfsig von den Lichtstrahlen getroffen werden. »Aber auch wenn die Mikroorganismen nicht so eng gedrängt sind, dafs sie ungleichmäfsig belichtet werden, macht sich die Bedeutung ihrer Zahl bemerkbar ....« Bie(131) ist hingegen der Meinung, dafs die Keimzahl hinsichtlich der Absterbegeschwindigkeit ohne Einflufs sei, da in Versuchen, bei welchen Bakterienverdünnungen im Verhältnis von 1 : 10 und 1 : 100 mit konzentriertem elektrischen Lichte bestrahlt wurden, die Sterilisation in beiden Aufschwemmungen gleich rasch eintrat. In einer späteren Arbeit schliefst sich Bie(135) allerdings wieder der Ansicht der vorerwähnten Forscher an und endlich vertritt auch Bang(115) denselben Standpunkt, wenn er gelegentlich seiner Untersuchungen über das Verhalten verschieden alter Bakterien gegenüber dem Lichte die Vermutung ausspricht, dafs das ungleich rasche Absterben jüngerer und

älterer Keime möglicherweise auf der wechselnden Keimmenge in den verschieden lange Zeit gewachsenen Bouillonkulturen beruhen könne.

Kruses Ansicht bezüglich des Verhaltens von Massenkulturen (d. i. teilweiser gegenseitiger Schutz der Bakterien vor Strahleneinwirkang) ist wohl anzuerkennen, doch dürfte einerseits dieser Fall für pathogene Keime in der Natur kaum vorkommen, andererseits ist die Verwendung von ausgewachsenen Massenkulturen wegen ihrer Unzweckmäfsigkeit bei unseren Untersuchungen stets zu vermeiden, so dafs dieser extreme Fall keiner weiteren Erörterung bedarf und wir sofort an die Untersuchung jener Möglichkeiten von variierenden Keimmengen herantreten können, bei welchen eine Beeinflussung des Bestrahlungseffektes durch übergelagertes Keimmaterial ausgeschlossen ist.

Die Durchführung dieser Versuche ist eine höchst einfache. Von einer Stammaufschwemmung werden tropfenweise verschiedene Mengen des Keimmaterials in gleichen Mengen von Bouillon eingebracht und von diesen neuerlichen Aufschwemmungen mittels Kapillarpipetten gleichgrofse Tropfen auf Agarwürfel verteilt und der Einwirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt. Nach bestimmten Intervallen werden mit diesen Proben Agargussplatten angefertigt und nachträglich die Keimzahlen bestimmt.

Versuch 254. 8. VII. 1906.

Staphylococcus pyog. aureus. Der Versuch dauert von 3—½6 Uhr Nachmittag.

In Kolumne A sind die durch Zählung direkt bestimmten Mengen der noch überlebenden Keime, in Kolumne B die aus diesen Werten rechnerisch ermittelten Mengen der abgestorbenen Keime wiedergegeben. Die Keimmengen in den Aufschwemmungen I und II verhalten sich wie 1 : 3.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Photochem. Lichtintensität	A Gezählte Mengen der überlebenden Keime		B. Ausgerechnete Mengen der abgestorbenen Keime		C.
					I.	II.	I.	II.	
0	50,1	24,6	$S_4\ B_0$	1,428	197 400	604 800	—	—	—
¼	50,8	25,1	$S_4\ B_0$	1,250	147 420	464 520	49 980	140 380	149 940
½	50,2	25,3	$S_4\ B_0$	1,000	133 560	303 660	63 840	301 140	191 520
¾	50,6	25,5	$S_4\ B_0$	0,909	12 600	15 960	184 800	588 840	554 400
1	50,0	25,6	$S_4\ B_0$	1,000	256	35	197 144	604 765	591 432
1¼	49,9	26,0	$S_4\ B_0$	1,000	7	92	197 393	604 708	592 179
1½	49,0	26,0	$S_4\ B_0$	1,000	2	1	197 398	604 799	592 194
2	46,9	25,2	$S_4\ B_0$	0,500	8	2	197 392	604 798	592 182
2½	44,5	26,1	$S_4\ B_0$	0,333	0	0	+	+	+

Ist schon in Kolumne A der ungleiche Abfall der Keimzahlen erkennbar, so tritt er in Kolumne B noch deutlicher hervor. Es ist wohl richtig, dafs bei der ersten Art der Wiedergabe des Versuchsergebnisses nach den einzelnen Bestrahlungsintervallen in der dichteren Aufschwemmung mehr Keime durch Zählung gefunden werden als in der dünneren, also anscheinend langsameres Absterben bei gröfserem Keimgehalt. Betrachten wir aber die Werte der abgestorbenen Keime in Kolumne B, so fällt sofort ein völlig entgegengesetztes Verhalten der Bakterien auf, indem während der gleichen Bestrahlungszeiten stets in der dichteren Anfschwemmung mehr Keime zugrunde gegangen sind, als in der dünneren. So sind beispielsweise nach $^1/_2$ Stunde in der dichteren Aufschwemmung mehr Keime (301 140) getötet worden, als sich in der dünneren vor Beginn des Versuches (197 400) überhaupt befunden hatten!

Ferner fällt eine gewisse Proportionalität zwischen den korrespondierenden Werten in Kolumne I und II auf, ja man kann — natürlich innerhalb gewisser Fehlergrenzen — aus dem einen gefundenen Wert den zweiten mittels der bekannten Verhältniszahl der Verdünnungen rechnerisch bestimmen. (Diese so ermittelten Werte sind in Kolumne C wiedergegeben.) Nach $^3/_4$ Stunden sind z. B. in der dünneren Aufschwemmung 184 800 Keime zugrundegegangen. Multipliziert man diese Zahl mit 3, d. i. der Verhältniszahl von II : I, so ergibt das Produkt 554 400 also einen Wert, der mit dem durch Zählung gefundenen (588 . 840) ziemlich übereinstimmt. Ein gleiches Verhalten konnte ich auch bei den anderen Experimenten, die diese Frage verfolgten, beobachten.

Auf Grund dieser Beobachtungen, sowie auch aus dem gleichzeitigen Eintritt der absoluten Abtötung (im mitgeteilten Beispiel nach 2 $^1/_2$ Stunden) können wir sagen, dafs die Abtötungsgeschwindigkeit des Sonnenlichtes von der vorhandenen Keimmenge unabhängig ist. Das proportionale Absterben von Bakterien in verschieden dichten Suspensionen mufs in etwas anderem als in der wechselnden Keimzahl begründet sein.

Den einzelnen Individuen innerhalb einer Keimaufschwemmung oder Kolonie kommt ein wechselnder Resistenzgrad gegenüber den verschiedensten äufseren schädigenden Einflüssen zu. Dementsprechend müssen wir in den von uns verwendeten Suspensionen einzelne Gruppen von Individuen A, B, C usw. annehmen, die der Einwirkung einer bestimmten Lichtintensität nach der Zeit a, solche, die derselben Intensität nach b Zeiteinheiten usw. erliegen. Diese verschiedenen Bakteriengruppen müssen natürlich in den von einer gemeinsamen Stammkultur angefertigten, verschieden dichten Aufschwemmungen in gleichem Verhältnis zu einander vorhanden sein und auf diese Weise erklärt sich das proportionale Absterben von Bakterien bei variierenden Keimmengen.

Es ist daher unrichtig, dafs die Keimmenge für das Absterben von Bakterien unter Lichteinwirkung von Bedeutung ist, sondern der variierende Resistenzgrad der einzelnen Bakterienleiber innerhalb einer Keimaufschwemmung bestimmt in Gemeinschaft mit der höheren oder niedrigeren Strahlungsintensität das raschere oder langsamere Absterben der bestrahlten Mikroben.

In der Natur und ebenso auch bei unseren Experimenten wird daher die Zahl der Keime belanglos sein, wenn wir sehen, dafs die absolute Tötung sowohl bei spärlicheren als auch reichlicheren Keimmengen gleichzeitig eintritt. Auch wenn die Insolation vor der absoluten Abtötung abschneidet, wird es gleichgültig sein, ob nach einer gewissen Zeit ein oder zehn Keime übrig bleiben, da dieser eine Keim — vorausgesetzt, dafs es sich bereits um Individuen von gleichem Resistenzgrad handelt — sich ebensolange noch lebensfähig erhalten wird, wie im anderen Falle die gleich widerstandsfähigen zehn Keime, und da dieser eine überlebende Keim unter günstigen Bedingungen wieder zum Ausgangspunkt für eine ungezählte Menge von neugebildeten Bakterien werden kann.

4. Die Widerstandsfähigkeit verschieden alter Bakterien gegenüber dem Sonnenlicht.

Im vorausgehenden Abschnitt lernten wir ein gesetzmäfsiges Absterben der Keime im Sonnenlichte kennen, welches ich mit einer den einzelnen Individuen eigentümlichen Resistenzfähigkeit in Zusammenhang brachte. Bei Einwirkung konzentrierten elektrischen Lichtes auf Bact. prodigiosum beobachtete Bang(115) eine mit dem Alter der Keime zunehmende Resistenzfähigkeit gegenüber dem Lichte, so dafs zehnstündige Kulturen ca. 5—6 mal mehr Licht vertragen als wie dreistündige. Ob wirklich das Alter oder aber nicht vielleicht eine geringere Keimzahl in den nur 3 Stunden gewachsenen Kulturen gegenüber den zehnstündigen Kulturen diese geringere Widerstandsfähigkeit bedingt, konnte Bang nicht entscheiden. Nach den eben gemachten Erfahrungen mit verschieden dichten Keimaufschwemmungen möchte ich die Vermutung Bangs umkehren und sagen, dafs möglicherweise das proportionale Absterben von Keimen bei verschieden reichlichen Keimmengen resp. die supponierte wechselnde Resistenzfähigkeit der einzelnen Individuen auf einer wechselnden Widerstandsfähigkeit verschieden alter Keime beruhen mag. Es wird daher unsere Aufgabe sein, zunächst zu prüfen, inwieweit das Alter auf die Widerstandskraft von Bakterien gegenüber dem Lichte einen Einflufs hat und weiters ob das proportionale Absterben von Keimen in verschieden dichten Aufschwemmungen auf diese Resistenzunterschiede älterer resp. jüngerer Individuen bezogen werden kann.

Zu diesem Zwecke impfte ich zunächst von einer Stammkultur ein Bouillonröhrchen und brachte dasselbe für 2 Stunden in den Brutschrank, nach welcher Zeit eine deutliche Trübung der Bouillon eingetreten war. (Die erste Teilung von Bakterien tritt bekanntlich innerhalb $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde ein.) Von dieser zweistündigen Kultur legte ich abermals mehrere Bouillonkulturen an, die 1, 2, 3—7 Stunden im Brutschrank belassen wurden. Auf diese Weise erhielt ich Keimaufschwemmungen,

die nach Möglichkeit nur Individuen enthielten, die nicht älter als 1, 2 . . . resp. 7 Stunden waren. Von diesen Kulturen bereitete ich mir in Bouillon Aufschwemmungen von annähernd gleicher Dichtigkeit, und diese Suspensionen wurden endlich tropfenweise auf Agarwürfeln verteilt, dem Sonnenlichte exponiert.

Der besseren Übersicht wegen teile ich im nachfolgenden die Mengen der abgestorbenen Keime in Prozenten umgerechnet mit:

Versuch 285/A. 14. VIII. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus.

II h bedeutet Keime aus der ersten von der Stammkultur geimpften Bouillonkultur, 2 h Keime aus der von der Bouillonkultur II geimpften zweiten Bouillonkultur.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Keimzahl	
					2 h	II h
1/4	49,9	25,6	S_4 B_0	1,000	55 %	10 %
1/2	49,9	26,0	»	0,909	56 %	18 %
1	50,0	26,1	»	0,768	90,3 %	51 %
1 1/2	49,0	26,6	»	0,714	— 100 %	— 100 %
2	47,0	27,0	»	0,454	100 %	— 100 %
2 1/2	44,6	27,0	»	0,333	100 %	— 100 %

— 100 % bedeutet, daſs noch ganz vereinzelte Keime überlebend sind.

Versuch 285/B.

Exposit.-Dauer in Stunden	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chemische Lichtintensität	Alter in Stunden				
					1	3	5	7	9 Tage
1/4	49,9	25,6	S_4 B_0	1,000	48 %	11 %	8 %	5 %	14 %
1/2	49,9	26,0	»	0,909	43 %	29 %	22 %	6 %	10,5 %
1	50,0	26,1	»	0,768	86 %	68 %	95 %	62 %	71 %
1 1/2	49,0	26,6	»	0,714	98 %	70 %	— 100 %	98 %	97 %
2	47,0	27,0	»	0,454	— 100 %	— 100 %	— 100 %	— 100 %	— 100 %
2 1/2	44,6	27,0	»	0,333	100 %	100 %	— 100 %	— 100 %	— 100 %

Aus Versuch 285/A ersehen wir, daſs die Vorsicht erst von kurzgewachsenen Kulturen (II.) die zu verwendenden Kulturen abzuimpfen, wohl angebracht war. Die Abtötung von zwei-

stündigen Kulturen, die von einer ebenfalls frischgewachsenen zweistündigen Kultur abgeimpft wurden, verläuft bei gleicher Lichtintensität bedeutend rascher als bei zweistündigen Kulturen, die direkt von einer 24 stündigen Agarkultur überimpft wurden. Dieser Unterschied kann nur darauf beruhen, dafs sich in der Aufschwemmung II mehr Keime, die älter als zwei Stunden waren, durch die direkte Überimpfung von einer alten Kultur befanden. Damit ist aber auch schon gesagt, dafs jüngere Bakterien gegenüber dem Sonnenlicht weniger resistent sind als ältere. Versuch 285/B ist eine weitere Bestätigung dieser Tatsache. Nach $1/2$ Stunde verhielten sich z. B. die Werte der abgestorbenen ein-, fünf- resp. siebenstündigen Keime wie 1:3:7. Diese Unterschiede machen sich aber vornehmlich innerhalb der ersten Stunde bemerkbar; je länger die Bestrahlung dauert um so mehr verwischen sie sich und endlich tritt in nahezu gleicher Zeit die absolute Abtötung bei allen ungleichaltrigen Kulturen ein. Wir dürfen eben nicht vergessen, dafs trotz aller Vorsicht bei der Überimpfung von der Ausgangskultur noch ältere Keime in die jüngeren Kulturen übertragen wurden und diese älteren Keime infolge ihrer höheren Widerstandskraft in allen Versuchsreihen eine Verzögerung des Eintrittes der absoluten Abtötung bedingten.

Versuch 290/A. 23. VIII. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chemische Lichtintensität	Alter		
					3 Stdn.	20 Stdn.	$3\frac{1}{2}$ Tage
$1/4$	47,5	25	S_4 B_0	0,768	68 %	49 %	43 %
$1/2$	48,0	25	»	0,666	70 %	—	45 %
1	47,0	26	»	0,526	89 %	55 %	48 %
2	46,5	26	»	0,370	100 %	84 %	83 %
$2\frac{1}{2}$	40,2	26	S_3 B_3	0,100	100 %	94 %	89 %

Dieser Versuch zeigt, dafs 20 stündige Keime eine gröfsere Resistenz besitzen als dreistündige und dafs Keime von $3\frac{1}{2}$ Tagen alten Kulturen (nach 24 stündigem Wachstum im kühlen Zimmer

aufbewahrt) eine ähnliche Resistenz besitzen wie 20 stündige Keime. Es scheinen 20—84 stündige Kulturen das Maximum der Widerstandskraft gegenüber dem Sonnenlicht erreicht zu haben, während nach dem Versuch 285/B neuntägige Keime wieder eine leichte Resistenzabnahme aufweisen.

Die Widerstandskraft der Bakterien gegenüber dem Sonnenlicht nimmt also mit dem Alter zu und auf diesen Resistenzunterschieden dürfte auch das proportionale Absterben von Keimen in verschieden dichten Aufschwemmungen zurückzuführen sein.

5. Das Verhalten angetrockneter Bakterien gegenüber dem Sonnenlichte.

Anläfslich der Kritik der einzelnen Versuchsmethoden habe ich darauf hingewiesen, dafs die Antrocknungsmethode für exakte Versuche nicht geeignet ist, und dafs die Widerstandsfähigkeit angetrockneter Bakterien gegen Bestrahlung einer gesonderten Untersuchung bedarf, da nach den Erfahrungen früherer Forscher Bakterien sich im feuchten Zustande dem Lichte gegenüber anders verhalten als im trockenen.

Es bestehen diesbezüglich drei verschiedene Ansichten, und zwar 1. gröfsere Resistenz im angetrockneten Zustande (Santori[34], Gaillard[26], Momont[52], Kirstein[116]), 2. geringere Resistenz im trockenen Zustand (Duclaux[18], Kruse[89], Jansen[129]) und 3. gleiche Resistenz angetrockneter und feuchtgehaltener Mikroben (Bie[135]). Bie meint sogar, dafs die Eintrocknung (durch 78 Stunden) an und für sich für Bakterien ohne nachteiligen Einflufs sei. Dieser Anschauung Bies mufs ich zunächst die gründlichen Experimente Fickers[88] entgegenhalten, der einwandsfrei nachgewiesen hat, dafs Bakterien durch die Austrocknung in hohem Grade geschädigt werden und zwar in dünner Schicht rascher als in dicker, ebenso auch bei energischer Exsikkation (im Exsikkator) als wie bei langsamer, dafs endlich auch Alter und Temperatur einen grofsen Einflufs haben. Es mufs daher eigentlich wunderbar erscheinen, dafs Mikroorganismen trotz Eintrocknung sich gegenüber dem Lichte resi-

stenter verhalten sollen als Bakterien im feuchten Zustande! Nach den Angaben Fickers wird es für den Ausfall unserer Versuche nicht gleichgültig sein, in was für einem Medium die Bakterien suspendiert und in welcher Weise dieselben ausgetrocknet werden. In der Tat werden uns auch die nachfolgenden Versuche zeigen, dafs das jeweilig verwendete Suspensionsmedium die Experimente in bemerkenswerter Weise zu beeinflussen imstande ist.

Das Verfahren, das ich bei diesen Versuchen einschlug bestand darin, dafs von einer in destilliertem Wasser angelegten Aufschwemmung möglichst rasch gleiche Mengen derselben in je 3 ccm destillierten Wassers, Bouillon resp. Peptonwassers verteilt wurden, möglichst rasch um die bakterienschädigende Einwirkung des destillierten Wassers nach Tunlichkeit zu vermeiden. Von diesen Aufschwemmungen brachte ich mittels Kapillarpipette gleichgrofse Tropfen auf sterile Deckgläschen. Diese wurden sodann durch 3 Stunden im Exsiccator mit Chlorkalzium im Eisschrank ausgetrocknet (im Eisschrank um die Exsikkation möglichst schonend auszuführen). Vor der Austrocknung wurde eine Kontrolle (K_I) nach beendeter Austrocknung resp. vor Beginn des eigentlichen Belichtungsversuches ebenfalls eine Kontrolle (K_{II}) angelegt und so eine eventuelle Schädigung dnrch den blofsen Austrocknungsakt festgestellt. Endlich wurde eine dritte Kontrollplatte (K_{III}) nach Beendigung des ganzen Versuches mit einem ausgetrockneten Deckgläschen, das im Versuchsraum vor Licht geschützt aufbewahrt wurde, angefertigt. Diese dritte Kontrolle sollte uns darüber Aufschlufs geben, was wir von der während der Versuche eingetretenen Schädigung auf Rechnung der Belichtung und was auf Rechnung der andauernden Eintrocknung setzen sollen. Nach Schluss der Einzelversuche wurden die Deckgläschen in Eprouvetten mit Bouillon gesammelt und daselbst mit sterilen Glasstäben feinst zerstampft, da erfahrungsgemäfs nur auf diese Weise ein möglichst vollständiges Freiwerden der angetrockneten Mikroben vom Glase erreicht wurde und nur so verlässliche Keimzählungen durchzuführen waren. Als Parallelversuche wurden von denselben Suspensionen Keimmaterial in feuchtem Zustande dem Sonnenlichte exponiert und zwar einerseits in der üblichen Weise auf Agarwürfeln andererseits in Bouillen resp. Peptonwasser und in Glasschälchen in dünner Schicht ausgegossen. Nicht allein bei der Exsikkation von Wassertropfen, auch bei der Austrocknung von Bouillon- und Peptonwassertropfen war noch vor Beginn des eigentlichdn Belichtungsversuches stets eine deutliche Keimzahlverminderung zu konstatieren.

Nach der Exsikkation der Bakterien war stets ein wesentlicher Unterschied in der Art der Eintrocknung der einzelnen Tropfen zu beobachten. Während die Tropfen des destillierten Wassers in unmerklich dünner Schicht höchstens mit Hinterlassung eines ganz schmalen zarten Ringes entsprechend dem

Rande des Tropfens eintrockneten, hinterliefsen die Peptonwassertropfen stets einen rissigen grauweifsen Niederschlag, der von den bei der Austrocknung ausgeschiedenen festen Bestandteilen dieses Mediums (Pepton, Kochsalz) herrührte. Die Bouillontropfen trockneten stets in Form eines erhabenen Häutchens, mit anderen Worten in dicker Schicht ein. Der Grad der Austrocknung kann in diesen drei Fällen nicht der gleiche gewesen sein, indem dieselbe bei den Wassertropfen am intensivsten, bei den Bouillontropfen am unvollständigsten sein mufste!

Die im nachfolgenden angeführten Werte bedeuten wieder die Mengen der abgestorbenen Keime.

Versuch 288. 22. VII. 1906.
16 Stunden alte Kulturen von Staphylococcus pyogenes aureus.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Feucht auf		Angetrocknet	
					Agar	Bouillon	Bouillon	Peptonwasser
K II					—	—	3 %	74,2 %
1/2	46,0	23,2	S_4 B_3	0,660	2,9 %	26,4 %	95,3 %	— 100 %
1	40,5	23,2	S_4 B_3	0,714	24,5 %	34,9 %	99,8 %	— 100 %
1 1/2	41,8	24,0	S_4 B_2	0,500	80,3 %	42,2 %	99,8 %	— 100 %
2	40,0	24,2	S_4 B_1	0,500	95,1 %	74,1 %	99,9 %	— 100 %
3	37,0	24,5	S_4 B_0	0,250	96,6 %	72,4 %	— 100 %	— 100 %
K III	—	—	—	—	—	—	9,9 %	80 %

Versuch 261. 24. VII. 1906.
15 Stunden alte Kultur von Staphylococcus pyogenes aureus.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Feucht auf Agar	Angetrocknet		
						Wasser	Peptonwasser	Bouillon
K II					—	22 %	63,3 %	23 %
1/2	33,0	25,0	S_0 B_7	0,200	27,2 %	95,6 %	91,9 %	59,1 %
1	35,0	25,6	S_3 B_7	0,200	30,7 %	— 100 %	95,3 %	91,3 %
1 1/2	47,1	26,0	S_4 B_5	0,625	55,7 %	— 100 %	97,2 %	98,8 %
2	43,0	26,6	S_4 B_2	0,500	99,2 %	100 %	— 100 %	99,7 %
2 1/2	42,0	26,7	S_4 B_1	0,333	99,4 %	100 %	— 100 %	99,9 %
3	35,8	26,7	S_4 B_2	0,111	— 100 %	100 %	— 100 %	— 100 %
K III	—	—	—	—	—	74 %	80 %	36 %

Versuch 261.

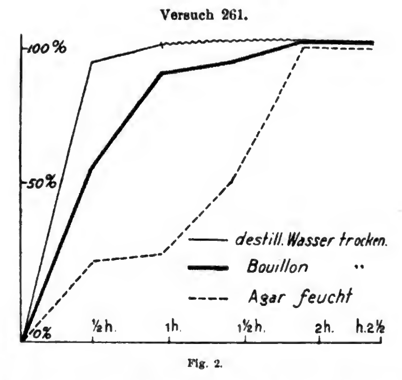


Fig. 2.

Die Abtötung trat also bei eingetrockneten Bakterien in allen Fällen rascher ein als bei nicht angetrockneten Keimen (auf Agar und in Bouillon). Die Raschheit der Abtötung durch das Licht wird von dem ursprünglichen Suspensionsmedium in hohem Grade beeinflufst, indem bei verhinderter stärkerer Austrocknung (Bouillon) oder bei Ausscheidung von festen Bestandteilen und teilweiser Deckung der Keime durch diese (Peptonwasser) die Bakterien langsamer durch das Sonnenlicht vernichtet werden, als wenn die Mikroben in einem Medium suspendiert sind, welches in sehr dünner Schicht austrocknet und keine Häutchen oder Niederschläge hinterläfst (destilliertes Wasser).

Es sind demnach jene Angaben unrichtig, nach welchen Bakterien im trockenen Zustande resistenter wären als im feuchten. Es wäre auch höchst auffallend, dafs Bakterien, die durch den Antrocknungsakt schon an und für sich geschädigt werden, beim Hinzutreten einer weiteren Schädigung, wie die Sonnenbestrahlung, gegen die letztere eine erhöhte Resistenz erlangen sollten.

Übertragen wir diese Versuche auf die Verhältnisse in der Natur, so ergibt sich für die Sonnendesinfektion von Sekreten

ein wesentlicher Unterschied, ob dieselben sich im feuchten oder trockenen Zustande befinden. Für Sputum wird im allgemeinen das Beispiel des angetrockneten Bouillontropfens anzuwenden sein, da ersteres infolge seines Muzingehaltes in gleicher Weise eine langsamere und unvollständigere Austrocknung und zwar in dickerer Schicht gestatten wird. Angetrockneter Harn, Blut, Eiter usw. dürfte annähernd ein Analogon im Peptonwassertropfen finden, wobei allerdings besonders bei Eiter und Blut eine Verzögerung der Abtötung infolge Ausscheidung von festen deckenden Krusten nicht übersehen werden darf.

Endlich möchte ich noch andeutungsweise erwähnen, dafs bei Versuchen, bei welchen die Austrocknung während der Bestrahlung durch Verdunstung vorgenommen wurde, im destillierten Wasser die Keime unvergleichlich rascher vernichtet würden als bei der Bestrahlung von vorher langsam ausgetrockneten Bakterien. Bei gleichen Versuchen mit Peptonwasser, und Bouillontropfen trat die Abtötung bald früher bald gleichzeitig ein, so dafs wir auf ein rapideres Absterben von Bakterien bei gleichzeitiger Bestrahlung und Antrocknung schliefsen können.

6. Der Einflufs der Luftfeuchtigkeit auf die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes.

Ob und inwiefern die Luftfeuchtigkeit bei der Keimabtötung durch das Sonnenlicht beteiligt ist, wurde, soweit ich die Literatur übersehe, niemals untersucht, obwohl man annehmen kann, dafs jene nicht ohne Einflufs sein dürfte. Wissen wir doch, dafs die Strahlungsintensität durch den gröfseren oder geringeren Gehalt der Luft an Wasserdampf stark alteriert wird, indem durch denselben Sonnenstrahlen in hohem Mafse absorbiert werden. Dafs die Luftfeuchtigkeit für die Feuchthaltung resp. Austrocknung von Bakterien, und dafs dieser jeweilige Zustand der Mikroben für die Abtötung derselben durch das Licht mafsgebend ist, bedarf keiner weiteren Erörterung. Hier soll ausschliefslich der Einflufs der Luftfeuchtigkeit und nicht der der Austrocknung untersucht werden.

Die Versuche wurden in der gewöhnlichen Weise ausgeführt, nur befanden sich am Boden eines der Behälter der Versuchsobjekte mehrere Lagen von sterilem Filterpapier, die reichlich mit sterilisiertem Wasser befeuchtet waren, während ein zweiter Behälter nur eine einfache Lage befeuchteten Filterpapieres enthielt, so daſs nur die Austrocknung der Agarwürfeln durch dieselben eben noch hintangehalten wurde. Bei der Einwirkung der Sonnenstrahlen kam es innerhalb des geschlossenen Raumes des ersteren Behälters zu reichlichster Verdunstung und Schwängerung der Luft mit Wasserdampf, während sich im zweiten Behälter am Deckel nur ein leichter Beschlag von Wasser bildete, der sich nach einmaligem Wegwischen nicht mehr erneuerte. Besonders sei hervorgehoben, daſs es in den Behältern mit relativ trockener Luft, nicht etwa zum Austrocknen der Agarwürfel kam, so daſs eine eventuelle konkurierende Schädigung durch Austrocknung während der Experimente ausgeschlossen werden kann.

Versuch 280. 9. VIII. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus. 20 Stunden alte Kultur.

Exposit.-Dauer in Stunden	Wärme-strahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chem. Licht-intensität	lufttrocken	Luft stark angefeuchtet
0	38,2	25,0	S_8 B_{10} [1]	0,625	998 400	998 400
1/2	37,5	25,0	S_8 B_{10} [1]	0,500	835 200	880 000
1	34,3	25,1	S_8 B_{10} [1]	0,333	632 000	819 200
1 1/2	36,0	25,0	S_2 B_{10} [1]	0,333	467 200	630 400
2	32,0	26,0	S_1 B_{10} [1]	0,166	297 600	528 000
3	22,0	25,2	S_1 B_{10}	0,125	129 600	299 200

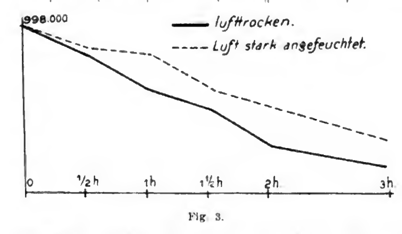


Fig. 3.

Der jeweilige Grad der bakteriziden Wirkung des Sonnenlichtes wird also auch durch den jeweilig herrschenden Feuchtigkeitsgehalt der Luft beein-

1) Dunst.

flufst, indem der in der Atmosphäre reichlicher suspendierte Wasserdampf die bakterizide Kraft des Sonnenlichtes in merklicher Weise zu vermindern imstande ist.

Nach Hutchinson (108) hat die Luftfeuchtigkeit auch einen Einflufs auf das raschere oder langsamere Niedersinken von in der Luft schwebenden Bakterien, so dafs vom epidemiologischen Standpunkte aus die Luftfeuchtligkeit von doppelter Bedeutung ist, indem einerseits bei gröfserem relativen Feuchtigkeitsgehalt der Atmosphäre die Keime von den Sonnenstrahlen in ihrer Lebenskraft weniger geschädigt werden und anderseits auch bei gröfserer Feuchtigkeit eine langsamere Sedimentierung aus der Luft stattfindet, so dafs für die Übertragung von Keimen von einer Person zur anderen und für deren Infektionsmöglichkeit günstigere Bedingungen bestehen.

7. Bakterien im „Hungerzustande".

Da mit der Einwirkung des Sonnenlichtes gleichzeitig eine Temperaturerhöhung verbunden ist und diese infolge gesteigerter Teilungstendenz der Bakterien einen gesteigerten Verbrauch der Reservestoffe bedingt, werden Keime im feuchten Zustande, wenn die Assimilation mit der Dissimilation nicht Schritt halten kann, in der Natur häufig unter weit ungünstigeren Bedingungen sich befinden, als es bei unseren Versuchen der Fall ist.

Dementsprechend können wir auch annehmen, dafs Bakterien im »Hungerzustande« der Einwirkung des Sonnenlichtes rascher erliegen müssen als Keime, welchen ein Ersatz ihrer Reservestoffe ermöglicht ist.

Um diese Verhältnisse im Experiment nachzuahmen, stellte ich Versuche an, bei welchen ich statt der gewöhnlichen Agarwürfel solche von Wasseragar als Vehikel für die Bakterien benutzte. Dadurch konnte ich die Keime vor Austrocknung bewahren und auch sonstige irgendwie geartete Schädigungen von ihnen fernehalten, da mich wiederholte Kontrollversuche bei Zimmertemperatur und Lichtabschlufs belehrten, dafs Keime

unter diesen Bedingungen auf Wasseragar sich durch Stunden ungeschädigt erhielten. Das Keimmaterial wurde teils in Bouillon teils in sterilisiertem Leitungswasser suspendiert auf diese Wasseragarwürfel in der üblichen Weise aufgetragen. Befanden sich die Bakterien in der zweiten Serie von Versuchen unter absolutem Nahrungsmangel, so würde den Keimen bei der ersten Versuchsanordnung (Bouillonaufschwemmung) ein Quantum von assimilierbaren Nährstoffen mitgegeben, welches nach kurzer Zeit aufgebraucht sein mufste, so dafs sich die Keime in diesem Falle unter relativem Nahrungsmangel befanden und die Abtötung — ist unsere Voraussetzung richtig — etwas langsamer verlaufen musste als im ersten Falle.

Als Kontrollversuche wurden die gleichen Keimaufschwemmungen auf Nähragar unter sonst gleichen Bedingungen dem Sonnenlichte exponiert.

Versuch 308. 4. IX. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus. 20 Stunden alte Kultur.
Bouillonaufschwemmung.

Exposit.-Dauer in Stunden	Wärmestrahlung	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Nähragar	Wasseragar
0	34,2	S_4 B_0 [1])	0,133	363 300	363 300
1	41,0	»	0,833	279 300	290 000
1½	50,0	»	1,250	253 600	214 200
2	51,2	»	1,250	39 060	23
3	52,2	»	0,909	3	0

Mit Ausnahme des Effektes einstündiger Bestrahlung trat tatsächlich im weiteren Verlaufe des Versuches auf Wasseragar ein rascheres Absterben der Keime ein als auf Nähragar, wobei gegen Ende des Versuches ein rapides Zugrundegehen der Keime zu beobachten war, ein Umstand, der offenbar mit der Erschöpfung des Nährmaterials (Bouillontropfen!) in Zusammenhang zu bringen ist.

1) Dunst.

Versuch 310. 5. IX. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus. 20stündige Kultur. Aufschwemmung in sterilisiertem Leitungswasser.

Exposit.-Dauer in Stunden	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Nähragar	Wasseragar
0	37,1	24,5	$S_4 B_0$[1])	0,500	806 400	806 400
1	45,5	25,0	» [1])	0,714	147 000	90
1½	44,1	26,0	»	0,768	6 720	15
2	47,5	26,0	»	1,000	spärlich	0
2½	50,0	26,0	»	1,000	0	0
3	50,1	27,0	»	0,833	0	0

Nach diesen Experimenten unterliegt es wohl keinem Zweifel, daſs **Bakterien beim Mangel von Nährstoffen rascher der Einwirkung des Lichtes erliegen, als wenn ihnen die Möglichkeit zur Assimilation geboten ist.** Daraus dürfen wir schlieſsen, daſs die Lichtdesinfektion in der Natur im allgemeinen rascher verlaufen dürfte als bei unseren Versuchen, bei welchen ja alle konkurierrenden schädlichen Einflüsse von den Bakterien nach Möglichkeit ferngehalten werden.

8. Welche Teile des Sonnenspektrums sind an der Bakterientötung beteiligt?

Die Verteilung der bakterizid wirkenden Strahlen im Sonnenspektrum gab zu einer stattlichen Reihe von Versuchen Anlaſs. Dabei gingen die Experimentatoren zunächst von der Tatsache aus, daſs das Sonnenlicht gleichzeitig belichtend und erwärmend wirkt. Schon Downs und Blunt ([1, 2]) glaubten eine reine Wärmewirkung bei diesem Prozeſs ausschlieſsen zu können, nachdem Bakterienaufschwemmungen in Gefäſsen, die mit Bleifolie eingeschlagen und dem Sonnenlichte exponiert worden waren, ein gleich gutes Wachstum zeigten wie die im Dunkeln aufbewahrten Kontrollproben. Mittels farbiger Glasfilter untersuchten sie die einzelnen Abschnitte des sichtbaren Spektrums und kamen zu dem Resultat, daſs vornehmlich,

1) Starker Dunst.

wenn auch nicht ausschliefslich, die stark brechbaren Strahlen bakterizid wirken. Jamieson ([9]) (in Melbourne) berichtete im Gegensatz, dafs Bakterien (B. termo) bei Temperaturen unter 36° nicht zugrunde gingen, auch wenn sie dem direkten Sonnenlichte exponiert wurden, mit anderen Worten beruht nach diesem Autor die Sonnenwirkung auf einer Schädigung der Bakterien durch Temperaturerhöhung. Arloing ([10]) bestätigt in seiner ersten Arbeit die Angaben von Downs und Blunt. Anläfslich späterer Untersuchungen (Arloing [11, 12]), bei welchen er mittels eines Heliostaten die Sonnenstrahlen auffängt und dieselben mit Glasprismen zerlegt, gewann er den Eindruck, dafs nur das unzerlegte weifse Licht, nicht aber eine differente Strahlenart keimtötende Wirkung besitze. Auf Grund weiterer Experimente ([13]) mit Benutzung von Wasserfiltern (in 2 cm hoher Schicht) und Filtern von konzentrierten Alaunlösungen, welche die Wärmestrahlen zurückhalten sollten, sowie aus Versuchen, bei welchen Bakterien in einem auf 45° C eingestellten Brutschrank dem Lichte exponiert wurden, zog er den Schlufs, dafs das Absterben der Keime nicht durch eine Temperaturerhöhung, sondern durch die Lichtstrahlen verursacht werden mufs. In gleichem Sinne sprachen sich auch Duclaux ([18]), Janowski ([36]), Santori ([34]), Laurent ([40]), Buchner ([46]) und Chmelewski ([53]) aus, welche bald den Lichtstrahlen, bald den »photochemischen« Strahlen die bakterizide Wirkung zuschrieben. Endlich seien die Arbeiten von Gaillard ([26]) erwähnt, der jeder Strahlenart keimtötende Wirkung, dem unzerlegten Lichte jedoch die stärkste Wirkung zuerkennt, sowie die Arbeiten von Martinaud ([42]) und Koltjar, ([50]), die eine Schädigung durch Lichtstrahlen sowie durch Wärmewirkung annehmen.

Aus dem Umstande, dafs Bakterien nicht der bei der Bestrahlung eintretenden Temperaturerhöhung erlagen, wurde auf eine Unwirksamkeit der sog. »Wärmestrahlen«, d. h. aller jenseits des ultraroten Endes gelegenen langwelligen Strahlen, geschlossen.

In einer referierenden Arbeit machte Raum (30), später Geisler (44) auf die Unrichtigkeit der Meinung aufmerksam, nach welcher bestimmten Strahlen auch nur eine bestimmte physikalische oder chemische Wirkung ausschliefslich innewohne, so dafs einem Strahle nur Wärmewirkung, einem anderen wiederum nur photochemische Wirkung zukomme. Geifsler betonte aufserdem noch den wesentlichen Unterschied zwischen Leitungswärme und Wärmestrahlung.

Bemerkenswert sind die Versuche des letzteren mit berufsten Glasgefäfsen, bei welchen er zeigen konnte, dafs Bakterien hinter berufsten Glaswänden, wenn auch langsamer als im weifsen Licht, so doch in merklicher Weise durch das Sonnenlicht geschädigt werden, womit zum ersten Male der Nachweis erbracht wurde, dafs auch langwellige Strahlen, die jenseits des ultraroten Endes des Spektrums gelegen sind, bakterizide Eigenschaft besitzen.

Neuerlich sucht Ward (58) durch Benutzung von reflektierten Strahlen (mit Spiegeln) im Winter zu beweisen, dafs nicht die »Wärmestrahlen«, sondern die farbigen und besonders die blauvioletten Strahlen bakterizid wirken, übersah aber, dafs jede Strahlengattung, auch die langwelligen, der Reflexion unterliegen. Buchner (47), Ledaut-Lebard (56), Dieudonné (73), D'Arsonval et Charrin (72), Billings and Peekham (77) und Kruse (80) sind durchwegs der Ansicht, dafs die violetten und ultravioletten Strahlen die wirksamsten seien, jedoch auch die anderen Strahlenarten — mit Ausnahme der ultraroten — in allerdings geringerem Grade bakterientötend wirken. Nach Untersuchungen von Beck und Schulze (81) mit den von Landolt angegebenen Lichtfiltern sollen die farbigen Strahlen überhaupt unwirksam sein. Ward (59) nimmt nochmals die Versuche auf und bedient sich dabei eines Glas- und eines Quarzspektrographen. Das Ergebnis dieser Experimente war, dafs im ultraroten, roten und gelben Abschnitte keine Abtötung stattfindet, hingegen von Grün bis ins Ultraviolett eine deutliche bakterizide Wirkung nachweisbar ist. Die Verwendung von Quarz statt Glas verfolgte den Zweck, die kurzwelligen Strahlen, für welche

Quarz gegenüber Glas in höherem Grade durchlässig ist, möglichst ungehindert auf die Mikroben einwirken zu lassen. Es folgen nun in stattlicher Reihe Arbeiten, die gröfstenteils aus dem Finseninstitut hervorgegangen sind und mit konzentriertem elektrischen, vereinzelt auch Sonnenlichte ausgeführt wurden. So die erste Arbeit Bies (102), bei welcher dieser Forscher mittels Filterflüssigkeiten in Glasgefäfsen zu dem Resultate kam, dafs alle Abschnitte des Spektrums, ausgenommen den ultraroten Teil, bakterizid wirken und zwar mit abnehmender Intensität von Violett nach Rot. Am wirksamsten (96% der Wirkung) sind die »photochemischen« Strahlen. Wie sehr die langwelligen Strahlen unterschätzt respektive Leitungswärme und Wärmestrahlung noch immer vermengt werden, geht aus einer Arbeit Bangs (115) hervor. Dieser sowie auch Bie (103) heben hervor, dafs das Licht der verwendeten Lichtquelle sehr heifs ist, und dafs daher Kühllinsen mit Wasser, respektive zwischengeschaltete Wasserschichten zum Schutze der Bakterien vor allzugrofser Erwärmung angebracht werden müssen. »Selbstverständlich — sagt Bang — ist die Wirkung der Wärmestrahlen nicht vollständig ausgeschlossen, wenn die Dicke der Wasserschicht nur 25 mm beträgt . . . . Es sind . . . . auch nicht die Wärmestrahlen als solche, die zu umgehen sind, sondern eine zu hohe Temperatur der Kulturflüssigkeiten . . . .« ». . . . Wie die Kontrollversuche einstimmig aussagen, leidet Prodigiosus keinen sichtbaren Schaden, wenn er einer Temperatur von 45° ausgesetzt wird während so kurzer Zeit, wie meine Versuche dauerten; trotzdem wird er bei dieser Temperatur schneller vom Licht getötet . . . .« Bang gibt also zu, dafs bei seinen Versuchen bei weitem nicht alle langwelligen Strahlen ausgeschaltet sind, nichtsdestoweniger wird hier sowie auch in späteren Untersuchungen die bakterizide Wirkung des Lichtes lediglich auf die kurzwelligen Strahlen bezogen. Bemerkenswert für den Nachweis der bakteriziden Wirkung der kurzwelligen Strahlen, sowie auch wegen der Eigenart der Versuche sind die Experimente Strebels (112), der sich bei seinen Versuchen mittels eines Funkeninduktoriums kurzwellige Strahlen erzeugt, diese

mit Hilfe von Quarzlinsen sammelt und auf seine Bakterien konzentriert. Das Licht kann nach seiner Angabe als »kaltes Licht«, d. h. als ein von langwelligen Strahlen freies Licht betrachtet werden. Bei Zwischenschaltung von Glas- oder Quarzplatten trat ungleich rasches Absterben der Bakterien ein. Das raschere Zugrundegehen hinter Quarz war ein Beweis, dafs die vom Glas zurückgehaltenen, also die ultravioletten Strahlen die wirksamsten sind. Endlich wurde noch in einer Reihe von Versuchen (Jansen (125), Busck (128, 134), Bie (132), Bang (138) die überlegene Wirkung der ultravioletten Strahlen durch Zwischenschaltung von Quarz- respektive Glasplatten zwischen Lichtquelle und Bakterien erbracht und eine desinfizierende Wirkung der langwelligen Strahlen ausgeschlossen.

Aus dieser auf das Allerwichtigste beschränkten Darlegung des Forschungsganges der uns hier interessierenden Frage geht hervor, dafs die bakterizide Kraft der violetten resp. ultravioletten Strahlen von Anfang an ziemlich allgemein anerkannt wurde. Auch den Strahlen des sichtbaren Spektrums wird zumeist eine bakterientötende Wirkung zugeschrieben. Die langwelligen, ultraroten Strahlen indessen werden mit ganz vereinzelten Ausnahmen durchwegs für unwirksam erklärt.

Dafs in Gefäfsen, die mit Stanniolpapier verklebt oder mit Asphaltlack bestrichen sind (Finsen), keine Abtötung stattfindet, spricht lediglich dafür, dafs die gleichzeitig mit der Strahlung eintretende Wärmeproduktion — natürlich, wenn diese nicht zu hoch ansteigt — auf die Bakterien ohne Einflufs ist; jedoch ist mit diesen Experimenten keineswegs bewiesen, dafs die langwelligen Strahlen bei der Bakterientötung unbeteiligt sind, da ja diese Strahlen auf ihrem Wege zu den Mikroorganismen durch Medien, die adiaphan und adiatherman sind, aufgehalten, ja zum Teile auch reflektiert werden und daher eine direkte Einwirkung der Strahlen auf die Bakterien verhindert wird. Diese Versuche haben also nur bewiesen, dafs die Bakterien den jeweilig herrschenden Aufsentemperaturen Stand zu halten vermochten. Auf einer besseren physikalischen Grundlage waren schon jene Versuche basiert, bei welchen eine Wärmestrahlenwirkung durch

Filtration des Lichtes mittels Wassers oder konzentrierter Alaunlösungen angestrebt wurde, wenngleich auch hier stets eine Vermengung von Wärmestrahlung und Leitungswärme stattfand. Unter diesen Versuchen nun finden sich sowohl solche, welche für eine Beteiligung der langwelligen Strahlen an der Keimtötung sprechen als auch solche, welche diese Strahlen als unwirksam zu erweisen scheinen. Mit Bezug auf derartige Experimente sei bemerkt, dafs — vorausgesetzt diese Filterflüssigkeiten sind imstande, langwellige Strahlen vollständig zu absorbieren — solche Lösungen für alle anderen Strahlen des Sonnenspektrums durchlässig oder zu mindest zum Teile durchlässig sind, daher auch bei supponiertem absolutem Ausschlufs der »Wärmestrahlen« sich der Rest des Spektrums in seiner Wirkung geltend machen mufs. Die absolut adiathermane Eigenschaft konzentrierter Alaunlösungen aber wird durchaus nicht von allen Physikern anerkannt. Nach Untersuchungen von Hutchinson (Sill. J. 43/526), Bidwell (Nature 44/565), sowie Thiele und Wolfs([140]) absorbieren Alaunlösungen eher weniger von den »Wärmestrahlen« als wie gewöhnliches Wasser, während Porter (Nature 45/29) wieder durch Alaun eine vollständigere Absorption findet, wie durch gewöhnliches Wasser. Aus selbst angestellten Versuchen ging hervor, dafs weder durch Wasser noch durch konzentrierte Alaunlösungen eine vollständige Absorption von »Wärmestrahlen« stattfindet, und dafs Alaunlösungen langwellige Strahlen etwas stärker absorbieren als Wasser.

Was endlich jene Versuche betrifft, bei welchen Glasbestandteile durch solche aus Quarz ersetzt wurden, so mufs anerkannt werden, dafs diese wohl geeignet sind, die hohe bakterizide Wirkung der kurzwelligen Strahlen darzutun, dafs diese Experimente aber nicht imstande waren, die Unwirksamkeit der langwelligen Strahlen zu beweisen, da Glas in gleicher Weise für ultraviolette wie für ultrarote Strahlen schlecht durchlässig ist (vgl. Vers. 68). Die einzigen Experimente, welche die Bedeutung der langwelligen Strahlen einigermafsen dartaten, waren jene von Geisler, der zeigte, dafs Bakterien auch hinter berufsten Glasplatten (welche in hohem

Grade als diatherman anzusehen sind, vgl. Vers. 68) vernichtet werden, wenn auch langsamer als im gesamten weifsen Lichte.

Ein beiläufiges Bild von den Absorptionsverhältnissen verschiedener uns hier interessierender Substanzen für langwellige Strahlen möge die nachfolgende Tabelle wiedergeben (mit Strahlungsthermometer bestimmt).

Versuch 68.

Wärmestrahlung	Absorbierende Substanzen	Wärmestrahlung hint. diesen Substanzen bestimmt.	Lufttemperatur
40° C	0,9 mm dicke Glasplatte . .	32,5°	18°
42° C	Konz. Alaunlösung gekühlt[1])	21,0°	19°
»	Destill. Wasser, gekühlt[1]) . .	22,0°	19°
»	Destill. Wasser, ungekühlt .	24,0°	19°
»	Agar 0,5 cm	37,0°	19°
»	Berufste Glasplatte	35,5°	19°

Um die Wirksamkeit oder Unwirksamkeit der einzelnen Strahlenarten des Sonnenspektrums zu erforschen, habe ich zwei Gruppen von Experimenten angestellt. In der ersten Gruppe wurde durch Zerlegung des sichtbaren Spektrums die Wirkungsweise der einzelnen »farbigen« Strahlen untersucht, in der zweiten Gruppe die Wirkungsweise der unsichtbaren, vornehmlich der ultraroten Strahlen. Die Zerlegung des sichtbaren Spektrums geschah mittels folgender Filterflüssigkeiten in 0,9 cm hoher Schicht:

1. Ammoniakalische Eosinlösung, durchlässig für Rot und Spuren von Orange, von a—C_{40},
2. Doppeltchromsaures Kali, durchlässig für Rot, Orange, Gelb und Spuren von Grün, von 0—65,
3. Kupferchlorid mit einigen Tropfen Salzsäure, durchlässig für Grün und Spuren von Gelb und Blau, von 80—140,
4. Schwefelsaures Kupferoxydammoniak, durchlässig für Blau und Violett und Spuren von Grün von 100 bis ins Ultraviolett.

1) Die Kühlung wurde seitlich durch fliefsendes Wasser vorgenommen.

Diese Filterflüssigkeiten wurden in allseits abgeschlossenen planparallelen Glasdosen mit 2,5 mm Glasdicke untergebracht. Die Dosen, auf ausgeschnittenen Falzdeckeln von Zinkblech angekittet, wurden als Deckel auf runde Blechdosen gestellt, innerhalb welcher sich die Bakterienproben befanden. Bei den Parallelversuchen mit unzerlegtem weifsen Licht mufsten die Strahlen ebenfalls eine gleiche Glasdose, die in gleicher Schicht mit destilliertem Wasser gefüllt war, passieren. Gegen die Verwendung von Filterflüssigkeiten wurde seinerzeit der Einwand erhoben, dafs die so gefundenen Abtötungswerte wegen variierender Intensität der so erzeugten Spektralabschnitte nicht kommensurabel seien. Wenn man aber bedenkt, dafs z. B. durch das Rotfilter die gleiche Menge von roten Strahlen durchgelassen wird, als rote Strahlen im unzerlegten Lichte enthalten sind, wird man die Berechtigung zugeben müssen, aus dem Vergleich solcher Experimente zu entscheiden, ob rote Strahlen überhaupt bakterizid wirken und wie grofs ihr Anteil bei der Abtötung von Bakterien durch das unzerlegte Sonnenlicht ist. Dasselbe gilt natürlich auch für alle anderen Farbenfilter im Vergleich mit dem weifsen Lichte und etwas Anderes strebten wir ja in unseren Versuchen auch nicht an.

In der zweiten Gruppe von Versuchen (mit »unsichtbaren« Strahlen) habe ich mehrere Verfahren angewendet, und zwar zunächst die Filtration von langwelligen Strahlen mit vollständigem Ausschlufs von Lichtstrahlen und ultravioletten Strahlen mittels konzentrierter Lösungen von Jod in Schwefelkohlenstoff, welche Substanz nach Tyndall schon in wenigen Millimeter hohen Schichten bei absoluter Adiaphanie für ultrarote Strahlen in hohem Mafse permeabel ist. Diese Lösungen wurden in gleichen Glasdosen untergebracht wie bei den Farbenfiltern[1]). Ferners habe ich die Versuche von Geisler mit berufsten Glasplatten

1) Da Schwefelkohlenstoff schon bei niedriger Temperatur verdampft, wurden an diesen Glasdosen, um ein Zerreifsen derselben durch den hohen Innendruck zu vermeiden, lange, am vorderen Ende in eine feine Spitze ausgezogene Glasröhren adaptiert, und diese vor das offene Fenster geleitet, um einerseits ein Entweichen der Dämpfe in die Atmosphäre zu ermöglichen und anderseits die Bakt vor einer schädlichen Einwirkung dieser Dämpfe zu schützen.

wiederholt, wobei abermals aufser den ultraroten Strahlen alle anderen Anteile des Spektrums ausgeschlossen waren. Eine weitere Reihe von Versuchen wurde mit durch Alaun und Wasser filtriertem Lichte ausgeführt, bei welchen Experimenten das Fehlen der teilweise zurückgehaltenen langwelligen Strahlen sich durch eine schwächere Schädigung eventuell bemerkbar machen mufste. Im Steinsalz endlich besitzen wir eine dem Quarz korrespondierende Substanz, indem dieses neben der Diaphanie noch die Eigentümlichkeit hat, langwellige Strahlen in hohem Mafse durchtreten zu lassen. Dementsprechend führte ich in einer weiteren Versuchsserie vergleichende Experimente mit Quarz, Steinsalz und Glas aus. Während unter Glas hauptsächlich nur die sichtbaren Strahlen zur Wirkung gelangen, kommt unter Quarz noch ein Plus an kurzwelligen, unter Steinsalz ein Plus an langwelligen Strahlen zur Geltung.

Diese letzteren Versuche waren so eingerichtet, dafs in eine rechteckige Blechdose mit Blechdeckel drei Fenster eingeschnitten waren, von welchen eines durch eine 5 mm dicke Steinsalzplatte, ein zweites durch eine 5 mm dicke Quarzplatte und das dritte durch eine gleichdicke Glasplatte abgeschlossen wurde. Der Innenraum war durch drei Blenden in drei Fächer geteilt, so dafs die Bakterien vor dem Eindringen von Strahlen aus der Nebenabteilung geschützt und unter gleichen Temperaturverhältnissen gehalten waren.

Versuch 289. 23. VIII. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alte Kultur. Versuchsdurchführung in der gewöhnlichen Weise. Versuchsdauer von $^3/_4$12—$^1/_4$3 Uhr nachmittags.

Exposit.-Dauer i. Std.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewölkung	Chemische Licht-Intensität	Keimzahlen				
					Unzerlegtes weifses Licht	Eosin-ammoniak-lösung	Kalium-bichromi-cum	Kupfer-chlorid	Schwefels. Kupfer-oxyd-ammoniak
0	45,0	22,5	S_4 B_0	1,111	369 600	369 600	369 600	369 600	369 600
$^1/_2$	45,5	23,0	»	1,111	340 200	346 500	357 000	382 200	441 000
1	47,3	23,0	»	1,250	57 960	382 200	303 200	415 800	474 600
$1^1/_2$	49,9	24,0	»	1,250	0	277 200	239 400	420 000	525 000
2	50,5	24,3	»	1,111	64	218 400	156 660	222 600	357 000
$2^1/_2$	51,1	24,6	»	1,111	7	130 200	56 700	134 400	126 000

Versuch 299. 1. IX. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 16 Stunden alte Kultur. Versuchsdurchführung wie gewöhnlich. Expositionsdauer von $^1/_2$12—$^1/_2$3 Uhr nachmittags.

Expositionsdauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Innentemperaturen bei				Bewölkung	Chemische Lichtintensität	I. Unzerlegtes weifses Licht	II. Eosinammoniaklösung	III. Kaliumbichromicum	IV. Kupferchlorid	V. Schwefelsaures Kupferoxydammoniak
			II.	III.	IV.	V.							
0	47,5	22,5	36,6	34,5	32,0	31,0	S_4 B_0	1,111	457 800	457 800	457 800	457 800	457 800
1	52,0	23,5	42,0	44,5	42,0	42,0	»	1,111	28 560	420 000	420 000	420 000	756 000
1 $^1/_2$	52,1	23,6	44,0	43,0	42,0	44,0	»	1,125	69	420 000	386 400	420 000	550 200
2	52,0	24,0	43,0	43,0	42,5	43,0	»	1,111	9	331 800	205 400	474 600	449 400
3	55,5	25,0	45,0	45,0	43,0	45,0	»	1,000	0	159 600	56 700	166 320	180 600

Die Innentemperaturen bewegten sich bei den vorerwähnten Versuchen zum Teile um die optimale Wachstumstemperatur, das für das Bakterienleben zulässige Maximum wurde nie überschritten.

Aus den Versuchen entnehmen wir, dafs unter allen Farbenfiltern Abtötung eintrat, am raschesten und vollständigsten allerdings im weifsen unzerlegten Licht. Das ist auch nur selbstverständlich, wenn wir sehen, dafs die Wirkung des Lichtes sich aus der Summe aller Strahlenarten zusammensetzt. Auch unter dem nur für Rot durchlässigen Filter tritt eine Abtötung und zwar eine ganz bedeutende Abtötung ein, trotzdem der Spektralabschnitt, der durch den Eosin-Ammoniakfilter durchgelassen wird (0—65) ein recht schmaler ist. Es sind daher bei der Abtötung von Bakterien durch das unzerlegte weifse Licht die roten Strahlen nicht nur unwirksam, sondern diese sind an der Gesamtwirkung des Lichtes sogar in nennenswerter Weise beteiligt. Dafs unter Kaliumbichromat die stärkste Abtötung stattfindet, könnte einerseits auf eine gröfsere Wirksamkeit der gelben Strahlen zurückgeführt werden oder hängt damit zusammen — und diese Annahme möchte ich als die wahrscheinlichere bezeichnen —, dafs durch dieses Filter ein umfangreicherer Spektralabschnitt durchgelassen wird, daher auch eine gröfsere Summe von Strahlen zur Wirkung gelangt. Mit dieser starken Intensitätsabschwächung

mag es auch zusammenhängen, dafs unter einzelnen Filtern im Anfange der Versuche ein Ansteigen der Keimzahl eintrat, indem zunächst die das Wachstum begünstigende Temperaturerhöhung (vgl. Abschn. 2) und erst im weiteren Verlaufe der Exposition die bakterienzerstörende Wirkung des Lichtes zur Geltung kam. In der Tat lehren auch Versuche, bei welchen als Vehikel für die Bakterien sogenannte indifferente Medien verwendet werden, dafs stets von Anfang an eine gleichmäfsige Keimzahlverminderung stattfindet, sobald die Möglichkeit einer Keimvermehrung wegen mangelnder Nahrungszufuhr ausgeschaltet wird. Wenngleich Versuchen mit indifferenten Medien keine absolute Verläfslichkeit beigemessen werden kann, möge dennoch ein solches Experiment hier wiedergegeben werden.

Versuch 148. 22. VIII. 1905.

Staphylococcus pyogenes aureus. 24 Stunden alte Kultur. Auf Wasseragar exponiert.

Exposit.-dauer i. Std.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewölkung	Chemische Licht-Intensität	Unzerlegtes weifses Licht	Eosin-ammoniak-lösung	Kalium-bichromicum	Kupfer-chlorid	Schwefel-saures Kupfer-oxyd-ammoniak
0	49,2	26,5	S_4 B_0	0,666	365 400	365 400	365 400	365 400	365 400
1/4	49,2	27,0	S_4 B_0	0,666	4 200	203 700	285 600	323 400	361 200
1/2	47,8	27,0	S_4 B_1	0,500	10	16 800	78 120	294 000	294 000
1	48,0	27,6	S_4 B_2	0,416	5	12 600	4 200	27 300	42 000
2	44,4	27,6	S_4 B_0	0,212	0	6 720	2 100	16 800	21 000
3	38,1	27,0	S_4 B_0	0,166	3	3 000	174	4 200	18 060

Bei Lichtabschlufs aufbewahrte Kontrollen enthielten nach 1 Stunde 361 200, nach 3 Stunden 298 200 Keime, so dafs der bei weitem gröfste Teil der Abtötung auf die Wirkung der Lichtstrahlen zurückgeführt werden kann. Eine besondere Überlegenheit der blauvioletten (kurzwelligen) Strahlen über die anderen farbigen Strahlen ist weder in den hier mitgeteilten noch in den anderen zahlreichen von mir angestellten analogen Experimenten zu finden, ja es hat den Anschein, als würden die stark brechbaren Strahlen innerhalb des sichtbaren Spektrums weniger wirksam sein wie die übrigen farbigen Strahlen!

Wie sich die Strahlen des unsichtbaren Spektrums, — ultrarote und ultraviolette Strahlen — verhalten, ist aus den vorangeführten Versuchen zunächst nicht zu erkennen, da diese beiden Strahlenarten wegen der Verwendung von Glas zum Teil ausgeschlossen waren· Die kräftige, bakterizide Wirkung der ultravioletten Strahlen werde ich nicht besonders zu beweisen brauchen, so dafs wir sofort an die Untersuchung der ultraroten Strahlen schreiten können. Zu diesem Zwecke seien hier zunächst die Versuche angeführt, bei welchen die Bakterien unter Jodschwefelkohlenstoff-Filtern hinter berufsten Glasplatten, Alaun- und Wasserfiltern dem Sonnenlichte exponiert wurden. In allen diesen Fällen werden die Bakterien nicht der Gesamtheit der ultraroten Strahlen ausgesetzt, da diese Flüssigkeiten sich in Glasgefäfsen befanden durch welche, — wie ich schon mehrfach hervorgehoben habe — langwellige Strahlen stark absorbiert werden. Die Versuche mit Jodschwefelkohlenstoff-Filtern und berufsten Glasplatten haben aber dennoch grofsen Wert, da wir nur auf diese Weise imstande sind, mit aus dem Sonnenspektrum isolierten langwelligen Strahlen zu experimentieren.

Es findet also unter Alaun- resp. Wasserfiltern eine Verzögerung der Abtötung der Bakterien statt (Versuch 289/B). Es müssen daher die durch diese Filter zurückgehaltenen Strahlen an der bakteriziden Wirkung des Lichtes beteiligt sein. Dafs unter Alaun eine stärkere Verzögerung der Abtötung als unter Wasser stattfindet, stimmt vollauf mit den im Versuch 68 mitgeteilten Erfahrungen über die Absorptionsverhältnisse dieser Flüssigkeiten überein.

Versuch 289/B. 23. VIII. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alte Kultur.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chemische Licht-Intensität	Unzerlegtes weifses Licht	(15 cm) Konzentr. Alaunfilter	(15 cm) Destilliert. Wasser
0	45,0	22,5	S_4 B_0	1,111	369 600	369 600	369 600
1/2	45,5	23,0	»	1,111	340 200	—	—
1	47,3	23,0	»	1,250	57 960	348 600	66 260
1 1/2	49,9	24,0	»	1,250	0	—	—
2	50,5	24,3	»	1,111	64	59 640	278
2 1/2	51,1	24,6	»	1,111	7	6 300	0



Zu Versuch 289/B.

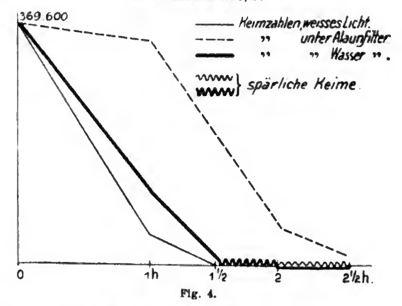


Fig. 4.

Versuch 299/B. 1. IX. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 16 Stunden alte Kultur.

Jod-Schwefelkohlenstoff-Filter.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Innentemperatur Jod-Schwefel	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Unzerlegtes Licht	Jod-Schwefelkohlenstoff-filter
0	47,5	22,5	36,6	S_4 B_0	1,111	457 800	457 800
1	52,0	23,5	42,0	»	1,111	28 560	—
1½	52,1	23,6	44,0	»	1,125	69	298 200
2	52,0	24,0	43,0	»	1,111	9	243 600
3	55,5	25,0	45,0	»	1,000	0	56 700

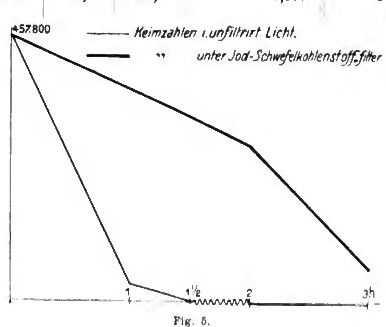


Fig. 5.

Versuch 263. 31. VII. 1906.

Staphylococcus pyogenes aurens, 24 Stunden alte Kultur.

Rufsplatte.

Expos.-Dauer in Std.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Innen-temperatur bei II	Bewöl-kung	Chemische Licht-intensität	Unzerlegtes weifses Licht	Hinter Rufsplatten (0,8 mm)
0	46,1	25,5	—	$S_4 B_1$	1.000	428 400	428 400
1/2	48,1	26,0	41,5	$S_4 B_0$	0,833	424 200	470 400
1	49,5	26,1	41,8	»	0,666	399 000	235 200
1 1/2	48,4	26,6	41,0	»	0,526	12 600	155 400
2	47,1	27,0	39,1	»	0,500	4 200	109 200
2 1/2	45,0	27,0	37,0	»	0,250	—	92 400
3	43,1	27,0	36,5	»	0,250	208	67 200

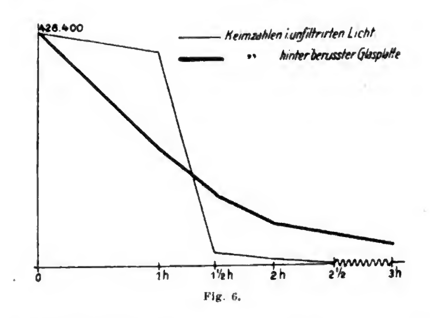


Fig. 6.

Die Innentemperatur der Versuchskästchen unter Jod-Schwefelkohlenstoff-Filtern und berufsten Glasplatten überstieg in den angeführten Versuchen nie die für das Leben der Bakterien zulässige obere Grenze, so dafs ein Absterben von Keimen nicht etwa auf Abtötung durch Erhitzung bezogen werden kann. Wenn dennoch unter diesen Filtern eine bemerkenswerte Keimzahlverminderung stattfindet, so deutet dies darauf hin, dafs auch den langwelligen Strahlen eine bakterizide Wirkung innewohnt, ohne dafs diese auf der erwärmenden

Wirkung dieser Strahlen beruht! Berücksichtigen wir die schon hervorgehobene Tatsache der teilweisen Absorption ultraroter Strahlen durch Glas, so können wir schon aus diesen Versuchen (bei denen ja stets Glasbehälter verwendet werden mufsten) schliefsen, dafs die bakterizide Kraft der infraroten Strahlen eine ganz bedeutende sein dürfte.

Zum Schlusse komme ich zur Wiedergabe und Besprechung jener Versuchsreihe, bei welcher durch Substitution der Glasplatten durch Quarz- resp. Steinsalzplatten eine Erweiterung der einwirkenden Spektralabschnitte über das rote resp. violette Ende stattgefunden hat.

Versuch 814. 6. IX. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alte Kultur.

Exposit.-Zeit in Stdn.	Wärmestrahlung	Innentemperatur Versuchskästchen	Bewölkung	Chemische Lichtintensität	Glas	Quarz	Steinsalz
0	46,0	35,0	S_4 B_0	1,000	840 000	840 000	840 000
3/4 (3/4 12—1/2 1)	47,0	34,0	»	1,000	764 400	483 000	462 000
1 1/2 (3/4 1—1/4 3)	50,8	36,0	»	0,826	697 200	359 100	107 100

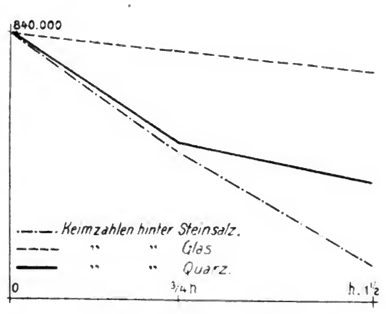


Fig. 7.

Versuch 283. 13. VIII. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alte Kultur.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Innentemperatur	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Glas	Quarz	Steinsalz
0	46,5	24,0	36,0	S_4 B_0	1,000	283 920	283 920	283 920
1/2 (3—1/2 4)	47,5	24,7	38,0	»	0,892	227 640	193 200	164 640
1 (3/4 4—3/4 5)	46,5	25,2	38,5	»	0,665	212 940	29 400	7 140

Versuch 289. 23. VIII. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alte Kultur.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Innentemperatur	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Glas	Quarz	Steinsalz
0	45,0	22,5	37,0	S_4 B_0	1,111	369 600	369 600	369 600
1 (3/4 12—3/4 1)	47,3	23,0	40,0	»	1,157	315 000	162 120	48 300
1 1/4 (1—1/4 3)	51,1	24,6	43,0	»	1,180	121 800	165	257

Aus dem bedeutend rascheren Verlauf der Abtötung von Bakterien hinter Steinsalz als hinter Glas können wir schliefsen, dafs den durch das Steinsalz durchtretenden Strahlen eine hervorragende bakterizide Wirkung innewohnt. Aus dem Umstande der gleichraschen, ja sogar meist merklich rascheren Abtötung hinter Steinsalz als hinter Quarz können wir weiter deduzieren, dafs die ultraroten Strahlen den ultravioletten Strahlen an bakterizider Wirkung nicht allein gleichstehen, sondern dieselben anscheinend sogar übertreffen.

Das Ergebnis aller angeführten Experimente ist also, dafs alle Abschnitte des Sonnenspektrums, sichtbare und unsichtbare Strahlen, bakterizide Eigenschaft besitzen, diese Kraft jedoch ungleichmäfsig verteilt ist, so dafs die maximale Wirkung an die unsicht-

baren Strahlen gebunden ist, gleichgültig ob diese jenseits des **ultravioletten** oder ultraroten Endes gelegen sind, ja die langwelligen Strahlen den kurzwelligen sogar an desinfizierender Kraft überlegen zu sein scheinen.

9. Versuche mit künstlich erzeugten langwelligen sog. dunklen Wärmestrahlen.

Sind die im vorhergehenden Abschnitt gemachten Beobachtungen richtig, dafs auch die langwelligen (sog. dunklen Wärmestrahlen) keimtötende Kraft besitzen und diese Keimtötung nicht durch einfache Umsetzung der eingestrahlten Wärme in Leitungswärme und in weiterer Folge durch schädliche Erhitzung stattfindet, so mufs es auch gelingen einen gleichen Effekt mit isolierten langwelligen Strahlen zu erzeugen. Um mir solche Strahlen zu verschaffen, bediente ich mich eines im folgenden zu schildernden »Wärmestrahlungsapparates«.

Auf einem 8 cm hohen Eisengestell ruht eine mit Ofenschwärze eingelassene quadratische Gufseisenplatte mit einer Seitenlänge von 30 cm und einer Dicke von 2,5 cm. Unterhalb dieser Platte ist in entsprechender Entfernung ein Gas-Heizkranz angebracht, dem von zwei Seiten das Gas zugeführt wird. Diese Zuleitungsrohre sind nach Art eines Teclubrenners adaptiert, so dafs für eine bedeutende Heizkraft der Flämmchen gesorgt ist. Auf die Gufseisenplatte ist ein ca. 5 cm hoher Asbestring mit einem Durchmesser von 30 cm aufgesetzt und dessen Innenraum in einer Höhe von ca. 4 cm mit trockenem feinen Flufssand gefüllt. Diese Sandschicht hält die Wärme der von unten ungeheizten Eisenplatte in hohem Grade zurück und bedingt eine gleichmäfsige Verteilung an Wärme in der Eisenplatte.

Diese geschilderte Vorrichtung ist in einer Holzkiste untergebracht. Diese ist innen allseits mit einem Doppelmantel von Asbest, der eine isolierende Luftschicht einschliefst, ausgeschlagen, um eine zu starke Erwärmung der Holzbestandteile zu vermeiden. In der Mitte des Kistenbodens befindet sich ein im Durchmesser 26 cm messender, kreisrunder Ausschnitt, über welchem in einer Entfernung von 8 cm die Gufseisenplatte liegt. An dem Rand dieses Ausschnittes ist dicht anschliefsend ein Asbestzylinder befestigt, der bis an die Unterfläche der Eisenplatte reicht und derselben abermals enge anliegt, so dafs also der Innenraum der Kiste mit dem daselbst

gelegenen Heizring nach unten vollkommen abgeschlossen ist. An den Seitenwänden der Kiste sind mehrfache Luftkanäle angebracht, die zu den Flammen des Heizringes führen und an ihrer Mündung nach aufsen mit Asbestblenden derart versehen sind, dafs ein Austreten der spärlichen, von den Gasflämmchen ausgesandten Lichtstrahlen nach abwärts verhindert wird. Oben ist die Kiste durch einen starken Asbestdeckel verschlossen, der in seiner Mitte einen Ausschnitt mit einem Abzugsrohr zum Entweichen der heifsen Luft und der Verbrennungsgase trägt. Dieser ganze Apparat ist in der Höhe verstellbar auf einem Galgen, der auf einem Tischchen (Versuchstischchen) aufruht, aufgehängt. In der Gaszuleitung ist endlich ein Dreiwegstück mit Gashahn eingeschaltet.

Die heifse Luft als spezifisch leichter strömt nach oben ab, die von den Gasflammen ausgesandten Strahlen werden vor dem unterhalb des Apparates befindlichen Partien des Versuchsraumes abgehalten, so dafs nur mehr jener Teil der erhitzten Eisenplatte, der über der Öffnung des Kistenbodens liegt, langwellige Strahlen nach abwärts aussendet. Dadurch erzielte ich eine reine Strahlung von parallelen langwelligen Strahlen mit Vermeidung einer eventuellen Nebenwirkung der heifsen Luft, die ja, wie erwähnt physikalischen Gesetzen folgend, nach oben entweicht. Durch Regulierung der Gaszufuhr mittels des Gashahnes, sowie durch Variation der Entfernung der strahlenden Fläche des Apparates von den darunter befindlichen Versuchsobjekten kann die Strahlungsintensität nach Belieben variiert werden.

Der Apparat ist in einem als Dunkelkammer adaptierten Raum aufgestellt, in welchem mittels lichtempfindlichen Papiers das Fehlen von photochemischen Strahlen, sowie mittels eines Bariumplatincyanürschirmes das Fehlen ultravioletter Strahlen nachgewiesen wurde.

Die Versuche wurden analog wie jene im Sonnenlicht ausgeführt. Die Lufttemperaturen wurden stets unterhalb des Apparates bestimmt. Parallel mit den Bestrahlungsversuchen stellte ich stets Kontrollversuche an, indem ich gleichbeschaffene Bakterienproben vor Licht geschützt in Wärmeschränken aufbewahrte, deren Innentemperatur jener am Strahlungsthermometer abgelesenen Wärmestrahlung entsprach.

Versuch 228. 19. V. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus. 24 Stunden alte Kultur.

Expositions-Dauer	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Keimzahlen A. Strahlungsapparat	Keimzahlen B. Kontroll-Brutkammer 38° C
0	38,8	29,0	1 808 000	1 808 000
1/2 Stunde	38,2	28,0	856 000	—
1 »	38,6	28,5	912 000	1 440 000
1 1/2 Stunden	38,0	28,4	160 000	—
2 »	38,3	28,5	136 000	∞
3 »	39,0	28,6	spärlichst	∞

Versuch 229. 21. V. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alte Kultur.

Expositions-dauer	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Keimzahlen A. Strahlungsapparat	Keimzahlen B. Brutkammer 38° C
0	38,0	27,2	552 000	552 000
1/2 Stunde	38,0	27,5	496 000	—
1 »	38,0	27,5	296 000	546 000
2 Stunden	37,8	27,5	288 000	728 000
3 »	38,6	27,5	80 000	∞
4 »	38,2	27,5	16 000	∞

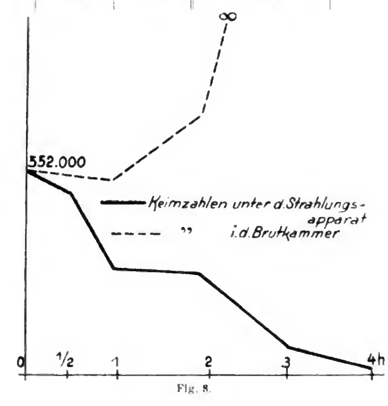


Fig. 8.

Versuch 230. 22. V. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alte Kultur.

Expositions-dauer	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Temperatur des Wärme-schrankes	Keimzahlen	
				unter dem Strahlungsapparat	im Wärmeschrank
0	41,0	28,5	42,0	620 000	620 000
1/2 Stunde	41,0	28,5	41,2	366 400	—
1 »	42,2	29,0	41,5	168 000	480 000
1 1/2 Stunden	42,3	29,0	41,5	94 000	—
2 »	42,5	29,2	41,5	8 000	680 000
3 »	42,0	29,2	42,0	8 000	∞
4 »	41,8	29,2	42,0	130	∞

Die Temperaturen waren in den beiden ersten Versuchen so gewählt, dafs sie das Temperaturoptimum nicht über schritten, im dritten Falle, dafs sie die für das Bakterienleben zulässige Temperatur nicht überschritten. Wenn Gunni Busck([134]) gelegentlich sagt » . . . . dafs es ja von vornherein selbstverständlich ist, dafs die Wärmestrahlen — wenn deren Intensität genügend grofs ist — bei sukzessiver Erwärmung eines Mediums, in welchem sich die Bakterien befinden, diese vernichten können, ebenso wie es der Leitungswärme möglich ist«, so kann dieser Einwand für die vorliegenden Experimente nicht erhoben werden. Denn ein Körper kann im besten Falle nur so viel Leitungswärme, auch nach stundenlanger Einwirkung, annehmen als ihm von der Wärmequelle eingestrahlt wird. Wenn sich daher die Einstrahlung, wie in unseren Versuchen, um die optimale Wachstumstemperatur bewegt und dennoch Abtötung stattfindet, so kann diese Schädigung der Bakterien nicht auf die Wirkung von in Leitungswärme umgesetzte Wärmestrahlung bezogen werden, sondern mufs als eine den langwelligen Strahlen innewohnende spezifische Wirkung auf Mikroben angesehen werden, die eben mit der Schädigung durch einfache Temperaturerhöhung nichts gemein hat.

Mit solchen künstlich erzeugten langwelligen Strahlen habe ich nahezu alle im Sonnenlicht angestellten Versuche wieder-

holt und durchwegs vollständig übereinstimmende Resultate erhalten.

Somit erachte ich die Tatsache, dafs auch den langwelligen Strahlen über das ultrarote Ende hinaus eine bedeutende bakterizide Wirkung innewohnt, für vollständig bewiesen.

10. Einflufs der begleitenden Lufttemperatur.

Wiederholt begegnen wir der Beobachtung, dafs die Abtötung von Bakterien durch das Licht bei höherer Lufttemperatur rascher eintritt als bei niedriger Temperatur. So berichtet Kruse(80) von einem Versuche, bei welchem Milzbrandsporen auffallend rasch zugrunde gingen. Die Lufttemperatur während dieses Versuches betrug 55° C. Dies veranlafste Kruse Sporen derselben Kultur in einen vor Licht geschützten Raum zu bringen, dessen Innentemperatur ebenfalls 55° C betrug. Erst nach dreiwöchentlichem Aufenthalt daselbst war ein beginnendes Absterben der Sporen zu konstatieren. Dieses Experiment, mit Bac. typhi wiederholt, ergab ein ähnliches Resultat, so dafs Kruse zu dem Schlufs gelangte, dafs diese rasche Abtötung bei Belichtung nicht durch die Einwirkung von Wärmestrahlen verursacht werden konnte, wohl aber die desinfizierende Kraft der Sonne mit steigender Temperatur zunimmt. Gleiche Beobachtungen sind in einer bereits früher erschienenen Arbeit von Santori(34) wiedergegeben. Auch Martinaud(42) macht bei seinen Versuchen mit Saccharomyzeten die gleiche Erfahrung. Dieudonné(78) hingegen hält die jeweilig herrschende Temperatur bei Belichtungsversuchen für belanglos. In neuerer Zeit beschäftigte sich Bang(115) eingehender mit dieser Frage. Er experimentierte mit konzentriertem elektrischen Licht (Finsen lampe) und hielt seine Bakterien während der Bestrahlung unter beliebigen Temperaturen, indem er die feuchten Kammern mit den Bakterienproben in einem von ihm konstruierten gefensterten, mit Wasser gefüllten Kasten unterbrachte und so der Strahlenwirkung exponierte, dafs zwischen Lichtquelle und Versuchsobjekt eine Wasserschicht eingeschaltet war. Das Ergebnis

seiner Versuche war, dafs Bact. prodigiosum bei 45° rascher als bei 30°, bei 35° rascher als bei 16—18° getötet wurde.

Bedenken wir, dafs der höheren Aufsentemperatur im allgemeinen eine bedeutendere Wärmeeinstrahlung entspricht, so ist es zunächst nach unsern Erfahrungen über die Wirkung langwelliger Strahlen nur natürlich, dafs die bakterizide Wirkung des Lichtes bei höherer Lufttemperatur infolge höherer Strahlungsintensität eine intensivere sein mufs. Es fragt sich nur, ob dieser Effekt einzig mit der gesteigerten Strahlungsenergie (der langwelligen Strahlen) zusammenhängt, oder ob auch die begleitende Lufttemperatur die Strahlenwirkung zu unterstützen resp. zu hemmen vermag. Die angeführten Versuche Bangs sind zur exakten Lösung der Frage insofern nicht einwandfrei, als die zwischen Lichtquelle und Bestrahlungsobjekt eingeschalteten Wasserschichten mit varriierender Temperatur eine gröfsere oder geringere Absorption von langwelligen Strahlen auf ihrem Wege zu den Bakterien bedingten.

Um diese Ungenauigkeit in der Versuchsanordnung zu umgehen, legte ich meine Bakterien auf den Boden von doppelwandigen Blechkästchen, die, als feuchte Kammern adaptiert, oben durch einen dünnwandigen Glasdeckel abgeschlossen wurden und durch Durchleiten von kaltem resp. erwärmten Wasser auf beliebige Temperaturen gebracht wurden. Der Zutritt des Lichtes zu den Bakterien war auf diese Weise (mit Ausschlufs des Glasdeckels) ein ungehinderter. Durch Vergleich parallellaufender Versuche unter der im Versuchsraum herrschenden und der willkürlich mitgeteilten Temperatur bei absolut gleicher Strahlungsintensität sollte der Einflufs der begleitenden Aufsentemperatur auf die bakterizide Wirkung der Sonnenstrahlen beobachtet werden.

Die Versuche mit Erniedrigung der umgebenden Temperatur wurden im Sonnenlicht und unter dem Wärmestrahlungsapparat, die Versuche mit erhöhter Aufsentemperatur hingegen in der Dunkelkammer unter dem Strahlungsapparat durchgeführt, welch letztere Versuchsdurchführung den grofsen Vorteil hatte, dafs Strahlungswärme und Lufttemperatur nach Belieben variiert werden konnte und diese Werte sich während des ganzen Versuches konstant hielten.

Ebenso wie es gelingt, durch Erniedrigung der begleitenden Temperatur (Versuch 264) die Wirkung des Lichtes auf Bakterien zu mildern, wird andererseits bei relativ niederer Strahlungsintensität die bakterizide Kraft durch Erhöhung der umgebenden Lufttemperatur gesteigert (Versuch 203).

Versuch 264. 31. VII. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alt.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Innentemperatur		Keimzahlen	
				un-gekühlt	gekühlt	un-gekühlt	gekühlt
0	46,1	S_4 B_1	1,000	—	14,0	428 400	428 400
$^1/_2$	48,1	S_4 B_0	0,833	40,0	14,5	388 500	428 400
1	49,5	»	0,526	43,0	13,7	222 600	424 200
$1^1/_2$	48,4	»	0,500	43,0	13,5	50 400	412 860
2	47,1	»	0,500	42,5	13,5	43	378 000
$2^1/_2$	45,0	»	0,250	40,0	13,5	0	268 800
3	43,1	»	0,250	38,5	13,5	0	275 520

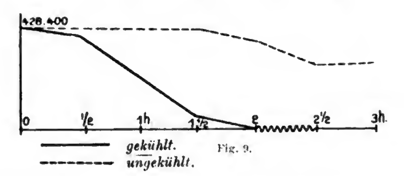


Fig. 9.

Der nachfolgend mitgeteilte Versuch wurde in der Dunkelkammer mit langwelligen isolierten »dunklen Wärmestrahlen« ausgeführt. Die Temperaturerhöhung der umgebenden Luft überstieg nie die optimale Wachstumstemperatur, die Intensität der Wärmestrahlung war eine sehr geringe und betrug 30° C.

Versuch 203. 21. IV. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alte Kultur.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Temp.-Erhöhung	Keimzahlen	
				bei Lufttemperatur	bei Temperatur-Erhöhung
0	30,0	22,0	37,5	344 400	344 400
$^1/_2$	30,0	22,0	37,0	250 740	110 010
1	30,0	22,2	37,0	180 600	92 400
2	30,0	22,5	37,5	155 400	84 000
3	30,0	23,0	37,5	120 540	61 740
$3^1/_2$	30,0	23,0	37,5	111 720	21 840

Zu Versuch 203.

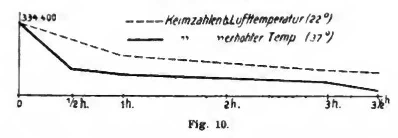


Fig. 10.

Nach diesen Versuchen ist es unzweifelhaft, dafs die jeweilig herrschende Lufttemperatur für die bakterizide Strahlenwirkung von grofser Bedeutung ist, da ein und dieselbe Strahlungsintensität bei Erhöhung der umgebenden Temperatur kräftigere, bei Erniedrigung eine abgeschwächte Wirkung auf die Mikroorganismen ausübt.

In der Natur wird dieser Faktor sicherlich eine grofse Rolle spielen, da z. B. bei bedecktem Himmel (Dunst) infolge gehinderter Ausstrahlung der Erdoberfläche hohe Lufttemperaturen bei gleichzeitig relativ geringer direkter Strahlung bestehen können und unter solchen Umständen, trotz der geringeren Strahlungsintensität, dennoch eine bedeutende Bakterientötung stattfinden wird. Auch in einer anderen Richtung wird sich der Einflufs der die Bakterien umgebenden Temperatur geltend machen, indem die Unterlage, auf welcher die Bakterien aufliegen, für die Abtötungsgeschwindigkeit mafsgebend sein wird. Durch wechselnde Absorption der Wärme von seiten verschiedener Substanzen wird den Bakterien bald eine gröfsere bald eine geringere Menge von Leitungswärme zugeführt und dadurch eine Steigerung resp. Verminderung der bakteriziden Wirkung der Sonnenstrahlen veranlafst. Überdies werden unter Umständen Bakterien, die in der Luft frei schweben, weniger stark vom Lichte angegriffen werden als Bakterien, die am erwärmten Boden, Strafsenpflaster etc. aufliegen!

Um diese Verhältnisse im Versuche nachzuahmen, verfuhr ich in der Weise, dafs ich Bakterienproben auf Agarwürfeln einerseits in einem Kästchen mit schwarzem Boden*, anderseits auf dünnem Deckgläschen mittels Klammern frei in der Luft gehalten, der Einwirkung langwelliger Strahlen exponierte. Bei diesen Versuchen wurde die Tischplatte des unterhalb des

Strahlungsapparates befindlichen Versuchstischchens entfernt und unterhalb dieses ein Kübel mit kaltem Wasser aufgestellt, um nach Möglichkeit eine Reflexion der Strahlen von unten auf die frei exponierten Bakterien zu vermeiden.

Während bei dem ersteren Experiment durch die schwarze Unterlage der gröfsere Teil der Wärmestrahlen absorbiert und in Leitungswärme umgesetzt wird, werden im zweiten Falle nur geringe Mengen absorbiert und in Leitungswärme umgeformt.

Versuch 167. 5. II. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 24 Stunden alte Kultur.
Dunkelkammer, Wärmestrahlungsapparat.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Innentemperatur in dem Versuchskästchen	Lufttemperatur	Keimzahlen	
				Bakterien im Versuchskästchen	Bakterien in der Luft frei aufgestellt
0	39,0	—	—	279 720	279 720
1/4	38,5	25,5	19,0	155 400	175 140
1/2	38,6	29,8	18,6	spärlich	97 440
1	38,0	33,5	19,0	0	86 520
2	39,1	34,5	19,5	0	65 100
3	41,0	36,0	20,1	0	33 600

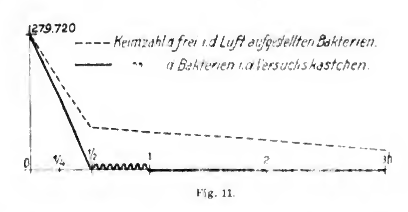


Fig. 11.

Dafs der Unterschied in der Keimzahlverminderung erst nach einiger Zeit (in dem obigen Versuch nach $^1/_2$ Stunde) stärker hervortritt, ist selbstverständlich und erklärt sich aus der erst während des Versuches fortschreitenden Erwärmung der dunklen Unterlage.

Diese Versuche, durchgeführt mit langwelligen Strahlen in der Dunkelkammer, können auch auf das Sonnenlicht übertragen

werden und zeigen, dafs die Art der Verteilung der Bakterien in der Natur, ob frei schwebend oder einer Unterlage aufliegend, für die Vernichtung derselben durch das Sonnenlicht von grofser Bedeutung ist, indem unter diesen verschiedenen Umständen auch die die Bakterien umgebende und denselben mitgeteilte variierende Temperatur die Abtötung der Keime durch das Sonnenlicht bald beschleunigen bald verzögern wird.

II. Intermittierende Bestrahlung.

Bei allen bis jetzt mitgeteilten Versuchen sahen wir, dafs die Abtötung der Bakterien durch das Licht selbst bei sehr hohen Intensitäten nicht sofort, sondern erst nach und nach eintritt. Diese Tatsache, wie auch die Frage, ob die Lichtwirkung mit dem Aussetzen der Bestrahlung sofort sistiert oder aber noch einige Zeit (induzierend) weiterwirkt, haben neben theoretischem Interesse auch praktische Bedeutung, da es nicht gleichgültig ist, ob in der Natur das Licht über die Zeit der Bestrahlung hinaus oder nur während der Bestrahlungsdauer auf die Bakterien wirkt, und ob es ferner möglich ist, dafs zeitlich aufeinanderfolgende Bestrahlungen, die durch längere oder kürzere Beschattung getrennt sind, sich summieren und die gleiche desinfizierende Wirkung ausüben wie eine gleichlange aber kontinuierliche und gleichintensive Belichtung. Aufser den Mitteilungen Bies ([135]) über intermittierende Bestrahlung, nach welchen die Gesamtwirkung der Summe der einzelnen Bestrahlungsintervallen entspricht, fehlen in der Literatur diesbezügliche Angaben.

Bei diesen Versuchen waren aber die einzelnen Intervalle so breit gewählt, dafs das Vorhandensein oder Fehlen einer induzierenden Wirkung des Lichtes nicht gefällt werden kann.

Im nachfolgenden wollen wir untersuchen, ob:

1. mit dem Moment der Bestrahlung auch die bakterizide Wirkung des Lichtes einsetzt, ob
2. diese Wirkung auch nach Aussetzen der Bestrahlung einige Zeit fortdauert (Induktion), und ob sich

3. die Wirkungen zeitlich getrennter Bestrahlungen derart summieren, dafs die Summe der Einzelwirkungen dem Effekt einer gleichlange dauernden, aber kontinuierlichen gleichstarken Bestrahlung entspricht?

Zur Klärung dieser Fragen mufsten intermittierende Bestrahlungen mit verschieden langen Bestrahlungs- respektive Beschattungsintervallen durchgeführt werden.

Ich bediente mich dazu eines Rotationsapparates, der aus einer runden fixen Blechtrommel mit gut anschliefsendem, rotierendem Deckel und einem Uhrwerk besteht, durch welches der Deckel in Bewegung gesetzt wird. Durch (auf das Uhrwerk) aufsetzbare Flügel, sowie durch auswechselbare Transmissionsräder mit verschieden grofsen Durchmessern kann die Rotationsgeschwindigkeit nach Belieben variiert werden. In dem rotierenden Deckel befinden sich vier gleichgrofse, runde Ausschnitte, die von gleichbreiten Blechstreifen getrennt sind, so dafs bei Rotation dieser Scheibe ein darunter befindliches Objekt sich gleichlange Zeit unter einem Blechsektor und gleichlange Zeit unter einem Ausschnitt befindet.

Neben den Experimenten mit dem Rotationsapparat stellte ich noch Versuche an, bei welchen die Bakterien kürzere Zeit, als die Abtötungszeit erfahrungsgemäfs beträgt, bestrahlt, sodann gleichlange im Dunkeln aufbewahrt wurden, um diesen Wechsel von Bestrahlung und Beschattung noch mehrmals zu wiederholen. Die unten angeführten Versuche sind so gruppiert, dafs in der Rubrik »Intermittierende Bestrahlung«, z. B. bei einer »einstündigen Expositionsdauer« nur die Bestrahlungsintervalle, nicht aber Beschattungsintervalle eingerechnet sind, so dafs in diesem Beispiele die wahre Versuchsdauer nicht eine, sondern zwei Stunden betragen würde.

Versuch 298. 31. VIII. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus, 16 Stunden alte Kultur.
Intermissionszeit = 0,12 Sekunden.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewolkung	Chemische Licht-intensität	Keimzahlen kontinuierl. Bestrahlung	Keimzahlen intermittier. Bestrahlung
0	44,0	21,5	$S_4 B_0$	1,111	470 400	470 400
1/2	45,6	21,8	»	1,000	348 600	338 100
1	47,5	22,0	»	1,250	25 000	—
2	51,0	23,0	»	1,111	29	15

Veruch 276. 8. VIII. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alte Kultur.
Intermissionszeit = 0,25 Sekunden.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Keimzahlen kontinuierl. Bestrahlung	Keimzahlen intermittier. Bestrahlung
0	42,0	24,0	S_4 B_0	1,000	386 400	386 400
½	45,6	24,6	S_4 B_1	0,909	353 640	352 800
1	44,0	25,0	S_4 B_2	0,833	315 000	323 000
1½	47,0	25,3	S_4 B_1	0,833	42 000	54 600
2	43,2	26,5	S_4 B_3	—	12	—

Versuch 271. 5. VIII. 1906.
Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alte Kultur.
Intermissionszeit = 1 Sekunde.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Keimzahlen kontinuierl. Bestrahlung	Keimzahlen intermittier. Bestrahlung
0	47,0	26,5	S_2 B_0	0,750	400 000	400 000
½	39,0	26,5	S_0 B_{10}	0,333	320 000	308 000
1	44,0	26,2	S_4 B_6	1,000	275 200	288 000
1½	47,1	27,0	S_4 B_0	0,768	182 400	192 000
3	42,5	27,2	S_4 B_0	0,250	32 000	—

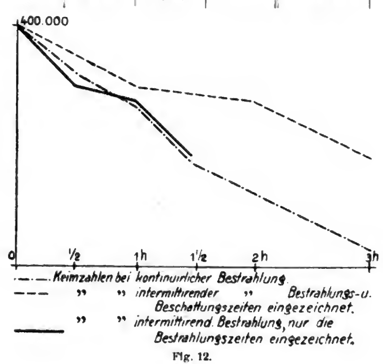


Fig. 12.

Versuch 291. 23. VIII. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 5 Stunden alte Kultur.

Intermissionszeit = 4 Sekunden.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewolkung	Chemische Licht-intensität	Keimzahlen kontinuierl. Bestrahlung	Keimzahlen intermittier. Bestrahlung
0	47,5	25,0	$S_4 B_0$	0,768	348 600	348 600
$^1/_4$	48,0	25,0	»	0,666	226 600	231 000
$^1/_2$	47,0	26,0	»	0,526	168 840	180 000
1	46,5	26,0	»	0,370	126 000	126 000
2	44,0	26,0	»	0,227	5 880	—

Versuch 276/B. 8. VIII. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alte Kultur.

Intermissionszeit = 15 Minuten.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Keimzahlen kontinuierl. Bestrahlung	Keimzahlen intermittier. Bestrahlung
0	42,0	24,0	$S_4 B_0$	1,000	386 400	386 400
$^1/_2$	45,6	24,6	$S_4 B_1$	0,909	353 650	357 000
1	44,0	25,0	$S_4 B_2$	0,833	315 000	323 000
$1^1/_2$	47,0	25,5	$S_4 B_1$	0,833	42 000	34 000
3	43,2	26,5	$S_4 B_2$	—	12	—

Allen diesen Versuchen können wir entnehmen, dafs, bei intermittierender Bestrahlung, der Effekt gleich ist der Summe der einzelnen Bestrahlungszeiten. Versuche mit sehr kurzen Bestrahlungsintervallen (0,12 Sekunden) lehren uns, dafs die Wirkung mit dem Moment der Bestrahlung einsetzt und mit dem Eintritt der Beschattung aufhört. Dieses momentane Einsetzen der bakteriziden Wirkung des Sonnenlichtes geht so weit, dafs ich selbst bei Intermissionen von hundertstel Sekunden die gleichen Resultate erhielt! Ebenso ersieht man aus den Versuchen mit breiteren Intervallen (1—4 Sekunden), dafs die Wirkung mit dem Moment der Beschattung aussetzt. Sonach besteht keine induzierende Wirkung, und wir können sagen, dafs die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes sich aus der Summe unendlich kleiner Einzelwirkungen

zusammensetzt, was wohl darauf hinweist, dafs die Sonnendesinfektion in einer direkt auf den Bakterienleib gerichteten Einflufsnahme beruht!

Aus den Versuchen mit breiteren Intervallen (¼ Stunde) geht hervor, dafs die durch das Licht gesetzte Schädigung auch nach dem Aussetzen der Bestrahlung bestehen bleibt, d. h. die Bakterien nicht imstande sind, sich während gröfserer Ruhepausen derart zu erholen, dafs das Licht bei neuerlicher Einwirkung die Schädigung der Bakterienzelle von neuem beginnen müfste!

Diese Tatsache hat für die Vorgänge in der Natur eine grofse Bedeutung, da es bei Bewölkung und starker Luftbewegung oft zu analogen Verhältnissen kommen wird, wie sie unsere Versuche nachahmten.

12. Die chemische Leistungsfähigkeit bestrahlter Bakterien.

Inwieweit die Einwirkung des Sonnenlichtes die Bakterien in den für sie charakteristischen chemischen Leistungen beeinflufst, ist mit Ausnahme der Pigmentbildung recht stiefmütterlich erforscht worden. Während in Untersuchungen von Gaillard (26), Laurent (40), Chmelewsky (53), Koltjar (50), Dieudonnée (73), Kruse (80) u. a. auf die Abschwächung respektive den Verlust des Pigmentbildungsvermögens chromogener Bakterien unter Lichteinwirkung hingewiesen wird, finden sich nur bei Chmelewsky (53) und Dieudonnée (73) Angaben über den Einflufs des Lichtes auf das Peptonisierungsvermögen, bzw. die Trimethylaminbildung durch Bakterien. Diese Autoren beobachteten eine dem Tode vorausgehende Abnahme und Verlangsamung der Gelatineverflüssigung durch Bakterien, sowie auch eine Abnahme respektive ein vollständiges Ausbleiben der Trimethylaminbildung. Ausgehend von der Erfahrung, dafs bei Belichtung stets eine Keimverminderung stattfindet, war der Gedanke von vornherein nicht von der Hand zu weisen, dafs die Unterschiede rein quantitativer Natur und von den in diesen Experimenten gröfseren oder kleineren Mengen

überlebender Keime abhängig seien. Dementsprechend führte ich bei meinen Versuchen parallel mit der Prüfung der Schwefelwasserstoffbildung, Gelatineverflüssigung, Vergärung und Trimethylaminbildung Keimzählungen durch, um eben zu ergründen, ob nicht die eventuellen Schwankungen dieser chemischen Vorgänge etwa in einem gewissen Verhältnis zur Keimabnahme stehen!

Versuch 309. 5. XI. 1906.

20stündige Kulturen von Bact. coli, Bact. typhi, Staphylococcus pyogenes aureus. Versuchsdurchführung in der gewöhnlichen Weise mit Agarwürfeln, welche zum Teil in die verschiedenen Nährmedien (Bouillon, Gelatine, Zuckeragar) versenkt, zum Teil zu Agargufsplatten verarbeitet werden.

Exposit.-Dauer i. Std.	Wälmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chemische Lichtintensität	Bac. typhi [1])		Staphylococcus pyogenes		Bact. coli comm.	
					Keimzahl	Schwefelwasserstoffbildung	Keimzahl	Gelatineverflüssigung	Keimzahl	Vergärung
θ	37,1	24,5	S_4B_0 [2])	0,500	2100000	sehr stark	806400	6. IX. θ 7. IX. †	2500000	sehr stark
1/2	43,1	24,5	» [2])	0,714	756000	do.	—	—	1092000	do.
1	45,5	25,0	» [2])	0,714	327600	do.	147000	6. IX. † 7. IX. †	840000	do.
1 1/2	44,1	26,0	» [2])	0,768	5040	do.	6720	6. IX. θ 7. IX. †	500000	deutlich
2	47,5	26,0	»	1,000	6. IX. θ 7. IX. 9240	6. IX. θ 7. IX. stark	6. IX. θ 9. IX. spärlich	6. IX. θ 7. IX. †	—	—
2 1/2	50,0	26,0	»	1,000	—	—	6. IX. θ 9. IX. spärlich	6. IX. θ 10. IX. †	spärlichst	vereinzelte Gasblasen
3	50,1	27,0	»	0,833	—	—	6. IX. θ 9. IX. spärlich	6. IX. θ 10. IX. †	—	—

Obwohl in dem Versuche mit Typhusbazillen eine erhebliche Keimverminderung ($^1/_{416}$) stattgefunden hat, trat dennoch in allen Proben eine gleichrasche und kräftige Bildung von Schwefelwasserstoff ein. In dem Versuch mit zweistündiger Bestrahlung blieb am ersten Tag Wachstum und natürlich auch Schwefelwasserstoffbildung aus, erst am zweiten Tage trat gleichzeitig mit dem Wachstum eine deutliche Schwärzung des Bleiazetatpapiers

1) † bedeutet Verflüssigung. 2) Dunst.

ein. Dasselbe war bei der Gelatineverflüssigung durch Staphylokokkus und der Zuckervergärung durch Kolibazillen zu beobachten; besonders deutlich trat in dem letzten Falle der Zusammenhang von chemischer Leistung und Keimzahl zutage. Endlich ergaben auch Versuche mit Bact. prodigiosum hinsichtlich der Trimethylaminbildung ein analoges Resultat.

Wenngleich ich aus äufseren Umständen verhindert war, eingehendere Erfahrungen über die Einwirkung des Sonnenlichtes auf die Pigmentbildung chromogener Bakterien zu sammeln, so möchte ich dennoch mit einigen Worten auf diese Frage zurückkommen.

Bei Bact. prodigiosum war wohl fast immer im Verlaufe der Versuche eine Verlangsamung, Schwächung oder ein Verlust der Pigmentbildung zu konstatieren. Bei Abkühlung der Kulturen während der Bestrahlung fiel es auf, dafs die Farbstoffbildung in viel geringerem Grade alteriert wurde. Bei Versuchen mit Staphylococcus pyog. aureus trat hingegen fast immer eine deutliche, vielleicht mitunter eine etwas verlangsamte Pigmentbildung ein. Es scheint demnach bei den einzelnen chromogenen Bakterien ein grofser Unterschied bezüglich der Resistenz des Farbstoffbildungsvermögens gegenüber dem Sonnenlichte zu bestehen, wofür auch die Beobachtungen Proves ([29]) sprechen, der zeigte, dafs bei Micrococcus ochroleucus nur unter der Einwirkung des Sonnenlichtes eine Pigmentbildung stattfindet. Auffällig ist, dafs jene Bakterien, welche im Sonnenlicht ihr Pigment verlieren, dasselbe auch bei Brutofentemperatur einbüfsen, während jene Arten, die in geringerem Grade oder gar nicht in der Farbstoffbildung durch das Sonnenlicht geschädigt werden, auch bei Bruttemperatur Pigment bilden!

Sehen wir von der eben berührten Frage ab, so scheint die chemische Leistungsfähigkeit der Bakterienzellen erst mit der vollständigen Zerstörung der letzteren durch das Sonnenlicht zu schwinden und eine eventuelle Verzögerung oder Abschwächung der chemischen Leistungen lediglich auf die durch die Belichtung verursachte Keimzahlverminderung zurückzuführen zu sein.

13. Wird die Virulenz pathogener Keime durch das Sonnenlicht beeinflufst?

Nach den Untersuchungen von Arloing ([11, 12]), Gaillard ([26]), Santori ([34]), Chmelewsky ([53]) und Migneco ([75]) geht der Abtötung der Bakterienzellen durch das Sonnenlicht eine Virulenzabschwächung voraus. Palermo ([79]) behauptet sogar, dafs Choleravibrionen bereits nach 3—4 stündiger Bestrahlung für Meerschweinchen avirulent waren, während ihre Keimzahl selbst nach 6—7 stündiger Bestrahlung unverändert blieb! Pansini ([35]) hingegen berichtet, dafs das Sonnenlicht auf die Virulenz von Milzbrandsporen nur von untergeordnetem Einflufs sei und nach Momont ([52]) soll die Virulenz von Anthraxbazillen bis zur Vernichtung ihrer Lebensfähigkeit durch das Licht erhalten bleiben. Eine Verminderung der Virulenz pathogener Keime ist — wie Kruse ([80]) meint — »nach allen unseren Erfahrungen von vornherein zu vermuten, denn jedes die Bakterienzelle schädigende Moment scheint deren infektiöse Eigenschaften abzuschwächen. Man mufs hier vorübergehende oder »individuelle« Abschwächung von der dauerhaften oder »vererbbaren« unterscheiden. Während nun Kruse eine Verminderung der »individuellen« Virulenz pathogener Keime durch das Sonnenlicht annimmt, kommt er auf Grund von Experimenten mit Milzbrandsporen zu dem Schlusse, dafs eine »vererbbare« Virulenzabschwächung durch das Licht nicht besteht.

So bestechend auch die Ansicht einer (individuellen) Virulenzverminderung durch die schädigende Wirkung des Sonnenlichtes zu sein scheint, müssen wir uns doch die Tatsache vor Augen halten, dafs bei einer Reihe von Bakterien die Erzeugung einer Infektion an ein gewisses Minimum des infektiösen Materials gebunden ist, so dafs nicht allein die Qualität in bezug auf Virulenz, sondern auch die Quantität der Mikroben für das Zustandekommen einer bakteriellen Erkrankung mafsgebend ist. Es liegt daher die Vermutung nahe, dafs bei den oben angeführten Versuchen eine Verwechslung in dem Sinne stattfand, dafs die negativ verlaufenden Tierimpfungen mit belichtetem Keimmaterial nicht auf einer Virulenzabschwächung, sondern mög-

licherweise auf der bei Belichtung unzweifelhaft eintretenden Keimzahlverminderung beruhen. Die gleichen Bedenken finden sich auch im »Handbuch der pathogenen Mikroorganismen« durch Wassermann ausgesprochen. Versuche, die diese gewifs nicht unwichtige Frage der »individuellen« Virulenzabschwächung klären sollten, sind indes nicht angestellt worden.

Um die von Wassermann und mir eben angeführte Überlegung auf ihre Stichhaltigkeit zu prüfen, ging ich in folgender Weise vor. Von einer Bouillonaufschwemmung, welche in einer Dosis von $^1/_2$ ccm eine Maus innerhalb 12 Stunden tötet, wurde ein Teil im Eiskasten aufbewahrt, der andere Teil in einer Petrischale in dünner Schicht ausgegossen und dem Sonnenlichte exponiert. Nach $^3/_4$, $1\,^1/_2$, resp. $2\,^1/_2$ stündiger Bestrahlung wurden von dieser Aufschwemmung Mäuse intraperitoneal geimpft, und zwar stets ein Tier mit $^1/_2$ ccm dieser bestrahlten Aufschwemmung (Tier A) und ein Tier mit so viel Aufschwemmungsmaterial, als erfahrungsgemäfs notwendig war, um dem Tiere eine der ursprünglichen Stammaufschwemmung entsprechende Keimmenge einzuverleiben (Tier B). Gleichzeitig wurden von der gleichen Suspension nach den einzelnen Bestrahlungszeiten Agargufsplatten angefertigt und nachträglich durch Zählung die verimpften Keimmengen kontrolliert. Diesen Keimmengen entsprechend wurden sodann von der im Eiskasten aufbewahrten Aufschwemmung Verdünnungen angefertigt und von diesen je $^1/_2$ ccm einer Maus injiziert (Kontrolltiere = K).

Versuch 312. 5. IX. 1906.

Bac. pneumoniae Friedl. 20 Stunden alte Kultur.

Exposit.-Dauer i. Std.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Be-wölkung	Chem. Licht-intensität	Keim-zahl	Tier I		Tier II		Tier III		Kontrolltier (K)		
						A. $^1/_2$ ccm	B. 1 ccm	A $^1/_2$ ccm	B. 2 ccm	A. 1 ccm	B. 3 ccm	A. $^1/_2$ ccm	B. $^1/_4$ ccm	C. $^1/_6$ ccm
0	37,1	24,5	S_4B_0[1]	0,500	1134000	—	—	—	—	—	—	†6. IX. nchts.	—	—
$^3/_4$	45,0	25,0	»[1]	1,000	512400	†7. IX nchts	†6. IX nchts	—	—	—	—	—	†7. IX. mrgs.	—
$1\,^1/_2$	47,5	26,0	»[1]	0,768	378000	—	—	†9. IX nchts	†6. IX nchts.	—	—	—	—	†9. IX. nchts.
$2\,^1/_2$	50,0	26,0	»	1,000	584	—	—	—	—	10. X. lebt.	10. X. lebt.	—		

1) Leichter Dunst.

Bei diesem Versuche erhielt Tier I/A die Hälfte der ursprünglichen eingesäten Keimmenge, Tier I/B die gleiche Menge wie in der Stammaufschwemmung injiziert. Versuchstier I/B und das korrespondierende Kontrolltier K/A gingen innerhalb von 12 Stunden zugrunde, während Versuchstier I/A und das entsprechende Kontrolltier K/B mit einer 24 stündigen Verspätung eingingen. Ebenso stirbt auch das Versuchstier II/B (mit Ergänzung der Keimmengen) entsprechend dem Kontrolltier K/A innerhalb der ersten 12 Stunden, während Versuchstier II/A zunächst gesund bleibt, ebenso wie Kontrolltier K/C. Beide Tiere zeigen am zweiten Tag nach der Impfung Symptome von Erkrankung und gehen endlich gleichzeitig in der Nacht des vierten Tages ein. Die Versuchstiere III/A-B bleiben von Anfang an reaktionslos und befinden sich auch nach zweimonatlicher Beobachtung am Leben, sie hätten ja ca. 1000 ccm injiziert bekommen müssen! Es findet also durch die Einwirkung des Sonnenlichtes auf Friedländerbazillus keine Abschwächung der »individuellen« Virulenz statt, so dafs ein eventueller negativer Impfversuch mit belichtetem Keimmaterial lediglich auf eine Keimzahlverminderung zurückzuführen ist.

Ob diese mit Friedländerbazillus gemachten Erfahrungen auch für Milzbrandbazillen usw. Anwendung finden, bei welchen die eingebrachte Keimzahl für die Erzeugung einer Infektion ohne oder von untergeordneter Bedeutung sein soll, entzieht sich heute noch meiner Beurteilung.

Zum Schlusse erwähne ich noch, dafs die Sektion der eingegangenen Tiere den für Friedländerinfektion charakteristischen Befund ergab, und dafs in allen Fällen Reinkulturen dieses Bazillus nachgewiesen werden konnten.

14. Die Resistenz verschiedener Bakteriengruppen gegenüber dem Sonnenlicht.

Da uns die variierende Resistenz verschiedener Bakteriengruppen gegenüber den mannigfachsten Schädigungen bekannt ist, war es von vornherein anzunehmen, dafs die verschiedenen Bakterien-

arten auch eine verschiedene Resistenz gegenüber dem Sonnenlichte besitzen dürften. Bereits Downs und Blunt ([1]) machten aufmerksam, dafs die Wirkung des Lichtes auf Bakterien (Spaltpilze) heftiger sei als auf die »übrigen mikroskopischen Pilze, welche mit Fäulnis und Zersetzung einhergehen«. In einer Zusammenstellung früherer Arbeiten macht uns Bie ([103]) mit den im Laufe der Zeit gewonnenen Erfahrungen über das Verhalten von Sprofs- und Schimmelpilzen gegenüber dem Lichte bekannt, nach welchen wohl einzelne Arten in ihrer Lebensenergie durch das Licht geschädigt werden, der gröfsere Teil dieser Mikroben jedoch unbeeinflufst bleibt oder aber die Entwicklung derselben sogar vom Lichte in günstigem Sinne beeinflufst werden kann. Nach den eigenen Untersuchungen Bies werden bei genügend starker Lichtintensität (konzentriertes Bogenlicht) auch Spross- und Schimmelpilze durch das Licht abgetötet, jedoch in viel geringerem Mafse als z. B. Bact. prodigiosum. Auch sollen nach diesem Forscher die pigmentierten Arten, wie Torula, Cladosporium, Aspergillus niger gegen Bestrahlung resistenter sein als unpigmentierte, wie Saccharomyces und Monilia. Es ist daher begreiflich, dafs sich schon bald das Hauptinteresse auf die Spaltpilze konzentrierte. Aus der stattlichen Reihe von Untersuchungen über die Widerstandskraft verschiedener Bakterienarten seien hier nur diejenigen berücksichtigt, bei welchen vergleichende Studien gemacht wurden. Bekannt dürfte es sein, dafs in den achtziger und neunziger Jahren des vorigen Jahrhunderts ein heftiger Streit herrschte, ob Sporen resistenter seien als Vegetationsformen, in welchem sich zahlreiche Vertreter der Ansicht fanden, die für eine geringere Resistenz der Sporen gegenüber den vegetativen Formen eintraten. Diese Meinungsverschiedenheit wurde u. a. von Momont ([52]) und Schreiber ([83]), in neuerer Zeit nochmals von Jansen ([129]) endgültig dahin entschieden, dafs — wie ja vorauszusetzen war — die Sporen, ob feucht oder eingetrocknet, dem Lichte gegenüber resistenter sind als die Vegetationsformen. Bezüglich jener Bakterien, die keine Dauerformen bilden, wurde zunächst von Duclaux ([18]) behauptet, dafs die Kokken rascher der Lichteinwirkung erliegen

als die Bazillen. Entgegen dieser, wohl vereinzelten summarischen Gegenüberstellung von Kokken und Bazillen berichtet Chmelewsky (53), dafs Staphylococcus pyogenes am resistentesten sei, und sodann in absteigender Linie Bac. pyocyaneus, Streptococcus erysipelatos und pyogenes folgen. Auch Kruse (80) bezeichnet den Staphylococcus als den widerstandsfähigsten der untersuchten Spaltpilze und läfst diesem mit abnehmender Resistenzfähigkeit Bac. typhi, Vibrio cholerae und Bac. anthracis folgen. Nach den Angaben von Larsen (106) wären Bac. coli, Bac. typhi, und Staphylococcus citreus von gleicher Resistenz, dann sollen Bact. prodigiosum, Staphylococcus pyog. aureus und albus folgen und endlich Bac. pyocyaneus und Bac. cyanogenes. Endlich sei noch Bang (130) erwähnt, der Tuberkelbazillen und Staphylococcus pyogenes gleichresistent gegenüber dem Lichte (Finsenlampe) fand. Volle Übereinstimmung herrscht also auch in dieser Frage nicht.

Dafs Dauerformen dem Lichte gegenüber wirksameren Widerstand leisten als die dazugehörigen vegetativen Formen, ist durch die oben erwähnten Arbeiten erwiesen. Orientierende Versuche in dieser Richtung haben auch mich zu dem gleichen Resultate geführt. Was die Widerstandskraft der Sprofs- und Schimmelpilze anbelangt, so ist es natürlich, dafs diese alle einer so konzentrierten Bestrahlung wie die von Bie verwendete endlich erliegen müssen, einer Bestrahlung, der überhaupt keine organische Substanz widerstehen kann. Diese Experimente können daher keine Anwendung für das Sonnenlicht finden, vielmehr werden für diese Pilzgruppen die älteren Angaben Geltung behalten. Wir werden uns daher auf die Untersuchung der uns speziell interessierenden Spaltpilze beschränken können.

Als erstes Experiment führe ich einen Versuch mit Sarcina lutea und Staphylococcus pyog. aureus an.

Versuch 306. 4. IX. 1906.
18 Stunden alte Kulturen.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Keimzahlen	
					Staphylococcus pyog. aur.	Sarcina lutea
0	34,2	24,0	$S_3 B_0$ [1])	0,133	363 300	10 500
$^1/_2$	33,0	24,0	» [1])	0,200	260 400	11 760
1	37,0	24,0	» [1])	0,250	277 200	18 060
$1^1/_2$	41,0	24,5	$S_4 B_0$	0,833	243 600	13 020
2	50,0	25,3	»	1,111	39 060	17 220
$2^1/_2$	51,5	26,0	»	1,250	20	15 960
3	52,0	27,5	»	1,000	0	13 020

Im einleitenden Kapitel sagte ich, dafs die bakterizide Wirkung des Sonnenlichts vornehmlich auf tiersaprophytische resp. tierpathogene Arten gerichtet ist, während die anderen Spaltpilze, welche wir gewöhnlich als »Luftkeime« bezeichnen, zum gröfseren Teile dem Sonnenlichte wirksamen Widerstand zu leisten vermögen. Diese Ansicht wird durch den obigen Versuch bestätigt, da die Sarcinen in unserem Beispiel nicht allein an Zahl unvermindert blieben, sondern sogar eine Vermehrung derselben stattfand.[2]) Nicht alle Spaltpilze aber, die aufserhalb des tierischen Organismus leben, werden ein gleiches Verhalten gegenüber dem Sonnenlichte aufweisen, so z. B. Bact. prodigiosum und einzelne Wasserbakterien.

In der folgenden Tabelle sind zur besseren Übersicht die Resultate in Prozenten der abgestorbenen Keime wiedergegeben.

Versuch 294. 29. VIII. 1906.
16 Stunden alte Kulturen.

Exp.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Luft-temperatur	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	Bac. pneumoniae Friedl	Staphylococcus pyog. aur.	Bact. coli	Bac. typhi
$^1/_2$	39,0	24,0	$S_4 B_0$[1])	0,500	0 %	0 %	12,6 %	49,4 %
1	38,0	24,0	» [1])	0,333	—	9,1 »	25,3 »	82,2 »
2	32,0	24,0	»	0,250	40,0 »	49,7 »	69,1 »	97,1 »
$2^1/_2$	26,5	24,0	»	0,125	46,3 »	56,7 »	73,0 »	98,7 »

1) Dunst.

2) vgl. Nachtrag.

Die Resistenzunterschiede dieser untersuchten Bazillen sind ganz bedeutende. Die höchste Resistenz fand ich stets bei Friedländerbazillus, die offenbar in einem Schutz dieser Bakterien durch die sie umgebende Schleimhüllen begründet ist.

In den folgenden Experimenten mit Diplo- und Streptokokken sowie Diphtheriebazillen konnte das Keimmaterial wegen der schlechten, anaeroben Wachstumsmöglichkeit nicht zu Gufsplatten verarbeitet werden, so dafs auch Keimzahlbestimmungen bei dieser Serie von Experimenten nicht vorgenommen werden konnten. Die Werte bedeuten daher die überlebenden Keime.

Versuch 311. 5. IX. 1906.
20 Stunden alte Kulturen.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärmestrahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chem. Lichtintensität	Staphylococcus pyog. aur.	Streptococcus pyogenes	Diplococcus pneumoniae	Bac. diphtheriae
0	37,1	24,5	S_4 B_6[1])	0,500	806 400	sehr üppig	sehr üppig	sehr üppig
1/2	43,2	24,5	» [1])	0,714	—	sehr gut	spärlichst	spärlich
3/4	45,0	25,0	» [1])	1,000	—	gut	spärlichst	—
1	45,5	25,0	»	0,714	140 700	mittelgut	spärlichst	spärlichst
1 1/4	43,2	25,0	»	0,833	—	0	0	—
1 1/2	44,1	26,0	»	0,768	15 120	0	0	0
1 3/4	47,6	27,0	»	1,000	—	0	0	—
2	47,5	26,0	»	1,000	spärlichst	0	0	0
2 1/2	50,0	26,0	»	1,000	—	0	0	0
3	50,1	27,0	»	0,833	0	0	0	0

Streptococcus pyog. ist etwas resistenter als Diplococcus pneumonie, sehr grofs ist jedoch der Unterschied nicht. Diesen an Widerstandskraft nahestehend erwies sich der Diphtheriebazillus. Nach Versuchen mit Choleravibrionen, bei welchen ich zu keinen exakten Resultaten gelangte, scheinen diese — soweit die Versuche verwertbar sind — ebenfalls eine recht geringe Widerstandsfähigkeit gegen Licht zu besitzen, ungefähr so wie Diphtheriebazillen.

Resümieren wir die Ergebnisse dieser Versuche, so können wir sagen, dafs unter den Pilzen in erster Linie die Spaltpilze durch das Licht nachteilig beeinflufst werden (Faden- und Sprofspilze entweder gar keine oder nur eine geringgradige Schädigung

1) Dunst.

erfahren [Saccharomyzeten] oder endlich sogar durch das Licht in einzelnen Lebensfunktionen unterstützt werden). Unter den Spaltpilzen wieder werden vorzüglich die im tierischen Organismus lebenden Saprophyten und Parasiten vom Sonnenlichte angegriffen, die in der Natur frei vorkommenden Angehörigen dieser Klasse bleiben zum gröfseren Teile durch das Licht unbeeinflufst.

Unter den tierpathogenen Bakterien bestehen bei den verschiedenen Arten Resistenzunterschiede, so dafs die hier untersuchten Bakterien nach ihrem (abnehmenden) Resistenzgrad gegenüber dem Sonnenlicht in folgende Ordnung gebracht werden können:

Bacillus pneumoniae Friedl.
Staphylococcus pyog. aureus.
Bac. coli commune.
Bac. typhi abdominalis.
Bac. diphtheriae.
Vibrio cholerae asiat.
Streptococcus pyogenes.
Diplococcus pneumoniae Fränkel-Weichselbaum.

15. Die bakterizide Wirkung des gesamten Tageslichtes, direkten Sonnenlichtes und diffusen Tageslichtes.

Schon Downs und Blunt([1]) machten in ihrer ersten Publikation darauf aufmerksam, dafs gleichwie dem direkten Sonnenlichte auch dem diffusen Tageslichte bakterizide Wirkung innewohnt, das diffuse Licht jedoch dem ersteren an Wirksamkeit weit zurücksteht. Was in dieser Arbeit sowie auch in den Arbeiten von Pansini([35]), Buchner([45]), Kruse([80]) und Dieudonné([73]) als Wirkung des »direkten Sonnenlichtes« ausgegeben wurde, dürfte jedoch durchwegs nicht diesem zukommen, da die betreffenden Versuche, nicht wie irrtümlich angegeben, im direkten Sonnenlichte, sondern vielmehr im gesamten Tageslichte ausgeführt wurden, die Bakterien daher der Summe von direkten Sonnenstrahlen und diffus reflektierten Strahlen (zer-

streutes Licht) exponiert wurden! Wenn u. a. Kruse berichtet, dafs dem diffusen Tageslicht eine nicht unbeträchtliche antibakterielle Kraft innewohne, so mufs dementsprechend auch die bakterizide Wirkung des gesamten Tageslichtes eine andere sein als die des direkten Sonnenlichtes. Es besteht nur die Frage, ob die relativ geringe bakterizide Kraft des diffusen Tageslichtes gegenüber der bedeutenden desinfizierenden Kraft des direkten Sonnenlichtes im gesamten Tageslicht eine nennenswerte Steigerung der Wirkung hervorzurufen imstande ist?

Um diese Frage zu entscheiden, habe ich folgenden Weg eingeschlagen: In drei als feuchte Kammern adaptierten runden Behältern mit Glasdeckeln sind in der gewöhnlichen Weise angefertigte Bakterienproben untergebracht. Einer dieser Behälter ist an einem nach Nordost gelegenen (offenen) Fenster aufgestellt, so dafs die Bakterien während der ganzen Expositionszeit (3—5 Uhr nachm.) ausnahmslos von zerstreutem Lichte getroffen werden. Der zweite Behälter ist an dem gegen das Zimmer zu gelegenen Ende eines 1 m langen Tubus mit einem Durchmesser von 12 cm eingeschoben. Dieser Tubus ist um eine vertikale und horizontale Achse, drehbar zur Sonne, stets so eingestellt, dafs die direkten Sonnenstrahlen in denselben eindringen und senkrecht auf die im Behälter befindlichen Bakterien einfallen. Durch diese Anordnung erreichte ich bei möglichster Abblendung der reflektierten Strahlen die Einwirkung von isolierten direkten Sonnenstrahlen auf die Keime. Der dritte Behälter endlich wird am gleichen Orte frei mit senkrechter Einstellung zum Einfall der direkten Sonnenstrahlen aufgestellt, so dafs die Bakterien in diesem Behälter der Einwirkung des direkten Sonnenlichtes und diffusen Tageslichtes, also dem gesamten Tageslichte exponiert werden.

Versuch 258. 22. VII. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus, 20 Stunden alte Kultur. Expositionszeit 3—5 Uhr nachmittags. Zahl der Keime zu Beginn des Versuches = 630 397.

Expos.-Dauer in Stdn.	Warmestrahlung	Lufttemperatur	Bewolkung	Chem. Lichtintensität[1])	Chemische Intensität des diffusen Tageslichts	Zahlen der abgestorbenen Keime diffuses Tageslicht	direktes Sonnenlicht	gesamtes Tageslicht
0	49,0	23,5	S_4 B_2	1,250	0,166	—	—	—
1/4	48,0	24,0	»	1,250	0,111	6 400	30 400	65 600
1/2	47,5	24,0	»	1,111	0,142	22 400	134 400	222 400
1	47,5	25,2	S_4 B_0	1,250	0,112	110 400	230 400	342 400
1 1/2	47,5	24,8	»	0,909	0,111	102 400	564 800	614 400
2	45,3	24,7	»	0,500	0,100	182 400	630 261	630 397

1) des gesamten Tageslichtes.

Während der Expositionsdauer von 2 Stunden war das diffuse Tageslicht bei einer chemischen Intensität von J=0,100—0,166 imstande, von 630 400 ausgesäten Keimen 182 400 Keime abzutöten, ein Effekt der immerhin nicht zu vernachlässigen ist. Im gesamten Tageslicht sind stets mehr Keime abgestorben als im direkten Sonnenlicht, es wohnt somit dem ersteren eine höhere bakterizide Kraft inne. Weiters können wir an dem mitgeteilten Beispiel die Tatsache verfolgen, dafs die bakterizide Wirkung des gesamten Tageslichtes aus der Summe der Wirkungen des direkten Sonnenlichtes und des diffusen Tageslichtes zusammengesetzt ist. Als eklatantestes Beispiel wähle ich die Werte nach einer einstündigen Expositionsdauer.

Im direkten Sonnenlicht sind 230 400 Keime abgestorben,
im diffusen Tageslicht 110 400

das sind 340 800 Keime gegenüber 342 400 Keimen im gesamten Tageslicht.

Somit können wir sagen, dafs die kräftigste Wirkung dem gesamten Tageslicht zukommt und dieses dem direkten Sonnenlicht an Wirksamkeit um den durch das zerstreute Tageslicht bedingten Effekt überlegen ist.

In der Natur werden sich auch diese Verhältnisse unter Umständen geltend machen können, da bei geringerer direkter Strahlung (z. B. bei Dunst) aber reichlichem zerstreuten Licht eine erheblichere Keimabtötung stattfinden wird, als man auf Grund der herrschenden direkten Strahlung vermuten würde.

16. Lichtintensität und Abtötungsgeschwindigkeit.

Bei der Besprechung der Lichtintensitätsmessungen habe ich bereits auf die oft enorm wechselnden Angaben der einzelnen Autoren bezüglich der Abtötungszeiten des Sonnenlichtes aufmerksam gemacht, welch' letztere zwischen ½ Stunde (Pansini) und 40 Tagen (Duclaux) schwankten. Aus der

stets wiederkehrenden Variation der Versuchsmethodik sowie aus den verschiedensten zu diesen Experimenten verwendeten Bakterienarten, werden diese divergenten Angaben schon zum Teile zu erklären sein. Von hervorragender Bedeutung aber ist die jeweilig wechselnde Lichtintensität, der die Mikroben bei diesen Experimenten exponiert wurden. Endlich sahen wir auch im vorhergehenden, dafs die Resistenz der Bakterien von mannigfachen Umständen, vom Alter der verwendeten Bakterien, von der Lufttemperatur, Luftfeuchtigkeit usw. abhängig ist, Dinge die bei allen diesen Versuchen meist vernachlässigt wurden. Auch das Fehlen von Keimzahlbestimmungen bei den meisten dieser Experimente mag zu den divergierenden Angaben über die Resistenz von Bakterien gegenüber dem Sonnenlichte beigetragen haben.

Um nun die keimtötende Energie des Sonnenlichtes durch ein allgemein verwertbares Mafs wiedergeben zu können, war es notwendig, neben der systematischen Bestimmung der Lichtintensität auch alle erwähnten, die Keimtötung beeinflussenden Nebenumstände zu berücksichtigen, resp. die Bakterien abgesehen von den Lichtintensitäten unter möglichst übereinstimmenden Verhältnissen der Wirkung des Sonnenlichtes preiszugeben. Zu diesen Versuchen wurde durchwegs Staphylococcus pyog. aureus verwendet. Das Alter betrug 16—20 Stunden. Die Versuchsdurchführung war dieselbe wie bei allen früheren Versuchen.

In der Tabelle I sind die Versuche so angeordnet, dafs stets gleiche Expositionszeiten zusammengestellt und innerhalb dieser wieder die Versuche nach den mittleren chemischen Lichtintensitäten geordnet sind. In Tabelle II, welche aus dieser ersten Tabelle zusammengestellt ist, sind die durchschnittlichen Abtötungswerte in Prozenten wiedergegeben. Die daselbst angeführten Werte haben natürlich nur für Staphylococcus pyog. aurens (16—20 Stunden alt) bei der jeweiligen Lufttemperatur und der verwendeten Versuchsmethode Geltung und beziehen sich auf die Wirkung des gesamten Tageslichtes.

Tabelle I.

Exposit.-Dauer	Mittlere chemische Lichtintensität	Maximale chemische Lichtintensität	Mittlere Wärme-strahlung	Mittlere Luft-temperatur	Ab-gestorbene Keime
1/4 Stunde	1,055	1,111	50,4	22,5	40,2 %
	1,055	1,111	51,1	23,0	42,0 »
	1,000	1,000	49,2	23,1	50,0 »
	0,800	0,833	49,3	24,0	10,8 »
	0,625	0,750	45,1	26,5	Vermehrung
1/2 Stunde	1,200	1,428	51,0	28,1	70,0 %
	1,160	1,250	48,8	22,1	85,8 »
	1,075	1,111	50,6	22,3	93,4 »
	1,037	1,111	50,4	23,0	90,0 »
	0,909	1,000	49,5	23,3	94,0 »
	0,755	0,833	49,5	24,0	34,4 »
	0,527	0,750	43,0	26,5	21,6 »
	0,525	0,625	37,8	25,0	16,4 »
	0,191	0,250	33,8	24,0	14,9 »
	0,166	0,200	33,6	24,0	28,4 »
1 Stunde	1,144	1,250	49,7	22,4	100,0 »
	1,120	1,250	45,7	21,7	94,7 »
	1,115	1,250	48,8	23,0	94,0 »
	1,044	1,111	50,5	22,8	— 100,0 »
	1,004	1,111	50,0	23,2	99,9 »
	0,930	1,000	49,5	23,5	99,9 »
	0,909	1,428	46,5	28,2	100,0 »
	0,676	0,833	49,2	24,0	71,2 »
	0,645	1,000	43,3	26,2	32,6 »
	0,607	0,714	41,3	25,0	81,8 »
	0,461	0,625	36,6	25,0	40,6 »
	0,405	0,250	36,2	24,2	28,4 »
	0,361	0,500	38,5	24,0	9,1 »
	0,194	0,250	33,7	24,0	23,2 »
1 1/2 Std.	1,122	1,250	47,2	21,9	— 100,0 »
	1,114	1,250	49,6	23,1	— 100,0 »
	1,103	1,250	49,8	22,5	— 100,0 »
	1,018	1,111	50,2	23,0	— 100,0 »
	0,966	1,111	49,9	23,4	— 100,0 »
	0,869	1,000	49,6	23,6	— 100,0 »
	0,670	1,000	44,0	26,5	55,3 »

(Fortsetzung der Tabelle I.)

Exposit.-Dauer in Stdn.	Mittlere chemische Lichtintensität	Maximale chemische Lichtintensität	Mittlere Wärme-strahlung	Mittlere Luft-temperatur	Ab-gestorbene Keime
$1\frac{1}{2}$ Std.	0,660	0,768	42,2	25,1	99,2 %
	0,625	0,833	48,7	24,1	76,3 ›
	0,429	0,625	36,5	25,1	53,3 ›
	0,408	1,250	39,6	24,5	33,0 ›
	0,354	0,833	35,5	24,1	33,1 ›
	0,333	0,500	37,8	24,0	44,1 ›
2 Stdn.	1,113	1,125	50,1	23,5	100,0 ›
	1,070	1,250	49,7	22,7	— 100,0 ›
	0,799	1,000	49,4	23,7	— 100,0 ›
	0,745	1,000	43,5	25,2	100,0 ›
	0,706	1,428	41,5	27,9	100,0 ›
	0,576	1,250	41,9	24,8	89,0 ›
	0,551	0,833	48,0	24,2	93,8 ›
	0,533	1,250	36,4	24,3	89,0 ›
	0,376	0,625	35,6	25,3	70,2 ›
	0,291	0,500	36,6	24,0	49,7 ›
*	0,128	0,142	—	24,0	29,0 ›
$2\frac{1}{2}$ Stdn.	1,033	1,250	49,8	22,9	100,0 ›
	0,937	1,111	50,0	23,3	100,0 ›
	0,846	1,111	49,7	23,6	— 100,0 ›
	0,796	1,000	44,8	25,5	100,0 ›
	0,718	1,000	49,0	23,8	— 100,0 ›
	0,652	1,250	40,6	24,6	— 100,0 ›
	0,625	1,000	44,3	26,6	83,6 ›
	0,499	0,833	46,8	24,2	96,9 ›
	0,261	0,500	34,9	24,0	56,7 ›
3 Stunden	1,094	1,125	50,9	23,6	100,0 ›
	1,000	1,250	49,2	23,1	100,0 ›
	0,822	1,250	49,7	23,6	100,0 ›
	0,702	1,250	42,2	25,0	100,0 ›
	0,683	1,111	49,3	23,8	— 100,0 ›
	0,632	1,250	43,6	25,3	— 100,0 ›
	0,602	1,000	45,7	25,7	100,0 ›
	0,578	1,000	44,1	26,8	92,2 ›
	0,334	0,625	33,3	25,3	87,1 ›

Tabelle II.

Exposit.-Dauer in Stdn.	Chemische Lichtintensität 0,166–0,291	Chemische Lichtintensität 0,331–0,578	Chemische Lichtintensität 0,602–0,822	Chemische Lichtintensität 0,900–1,200
1/4	—	—	0–10,8 %	40–50 %
1/2	19,9–28,4 %	16,4–21,6 %	34,4 %	70–94 %
1	23,2 %	9,1–40,6 %	32,6–71,2 %	94–100 %
1 1/2	—	33,0–53,3 %	55,3 – (– 100) %	(– 100) %
2	29,0–49,7 %	70,2–93,8 %	(– 100) – 100 %	(– 100) – 100 %
2 1/2	56,7 %	96,9 %	83,6–100 %	100 %
3	—	87,1–92,2 %	(– 100) – 100 %	100 %

Aus Tabelle I ist zu entnehmen, dafs Lichtintensitäten von J = 0,900—1,200 nahezu gleiche Wirkungen haben, dafs also die maximale Wirkung des Sonnenlichtes um J = 1,000 gelegen ist. Weiters lehren uns diese Versuche, dafs eine durchschnittliche Lichtintensität von J = 1,000 mitunter schon nach einer Stunde eine vollkommene Sterilisation bedingt, mit absoluter Sicherheit aber bei unseren Versuchen erst nach 2 1/2 Stunden eine solche erwartet werden kann. Auch niedrigere Intensitäten als J = 1,000, wie Intensitäten von J = 0,602—0,822 veranlassen, jedoch nicht verläfslich, innerhalb von 3 Stunden eine vollständige Vernichtung von Staphylokokken. Eine Lichtintensität von rund J = 1,000 vermag in ca. 1/4 Stunde ungefähr das Gleiche zu leisten wie eine Intensität von J = 0,200 in 2 1/2 Stunden, jedoch macht sich auch eine so geringe Intensität schon nach 1/2 stündiger Einwirkung bemerkbar, wenn auch in geringem Grade (abgestorben 19,9—28,4 %).

Die Wirksamkeit des diffusen Tageslichtes wurde bereits im vorhergehenden Kapitel besprochen. Hier erwähne ich nur noch, dafs bei einer durchschnittlichen Lichtintensität des diffusen Lichtes von J = 0,154 innerhalb einer 2- bis 2 1/2 stündigen Bestrahlungszeit ca. 32 % Keime abgestorben waren, ein Beweis dafür, dafs direktes und diffuses Licht ähnliche Wirksamkeit besitzen (vgl. Tabelle I*)). Der Unterschied zwischen diesen beiden Strahlenarten liegt also lediglich in der verschiedenen Intensität derselben. Trotz der relativ geringeren bak-

teriziden Wirkung des zerstreuten Lichtes dürfte demselben in der Natur doch eine bemerkenswerte Rolle zukommen, da ich in einer Reihe von Experimenten die Beobachtung machen konnte, dafs eine plötzlich eintretende hohe Lichtintensität (bei starken Wolkenverschiebungen) Bakterien, die vorher schon längere Zeit schwächeren Intensitäten preisgegeben waren, unvergleichlich rascher vernichtete, als wenn dieselben Intensitäten auf vorher unbestrahlte Bakterien trafen. Wir werden uns darüber auch nicht verwundern, wenn aus Experimenten mit intermittierender Bestrahlung hervorgeht, dafs die Gesamtwirkung des Sonnenlichtes sich aus der Summe von zahlreichen Einzelwirkungen zusammensetzt.

Die Versuche wurden absichtlich durchwegs mit Staphylococcus pyog. ausgeführt, da dieser zu den widerstandsfähigsten der uns in dieser Arbeit interessierenden Keime gehört. Wir können daher die im Verlaufe unserer Untersuchungen gesammelten Erfahrungen mit Staphylokokken auf die übrigen pathogenen Bakterien übertragen, ohne dabei die bakterizide Kraft des Sonnenlichtes zu überschätzen. Im Gegenteil sind wir auf Grund der im Abschnitt 14 erhobenen Befunde berechtigt anzunehmen, dafs die Abtötung der übrigen Keime (ausgenommen der Kapselbazillen) sogar rascher eintritt als es bei den Staphylokokken der Fall ist. Aber auch bei den letzteren können wir in der Natur ein viel rascheres Absterben unter Lichtwirkung annehmen, da bei unseren Versuchen einerseits stets starke Glasabsorption (vgl. Abschnitt 8) stattfand und wir anderseits annehmen können, dafs die Keime sich gewöhnlich in der Natur von Haus aus unter ungünstigeren Bedingungen befinden wie bei diesen Experimenten (vgl. Abschnitt 7). Anderseits müssen wir aber zugeben, dafs unter Umständen in der Natur die Keime nicht immer für die Lichtstrahlen so leicht zugänglich sind wie bei unseren Versuchen, woraus wieder eine Verzögerung der Lichtdesinfektion resultieren kann.

17. Worauf beruht die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes?

Von einer Reihe von Autoren (Downs und Blunt [2], Gailard [26], Dandrieu [29], Momont [52], Kruse [80], Kezior [96], Dieudonné [73], Bie [135] wurde nachgewiesen, dafs die Abtötung von Bakterien durch das Licht bei Sauerstoffgegenwart rascher vor sich gehe als bei Mangel oder absolutem Fehlen desselben, dafs jedoch auch in sauerstoffreicher Atmosphäre eine Abtötung stattfindet. Thiele und Wolf [140] hingegen berichten in neuester Zeit, dafs sowohl bei Sauerstoffgegenwart als auch bei absolutem Sauerstoffmangel die Abtötung der Bakterien gleichzeitig eintritt. Versuche, die ich in dieser Richtung anstellte, zeigten, dafs die Abtötung bei Sauerstoffgegenwart rascher eintrat als bei Sauerstoffmangel.

Die Versuche waren in der Weise eingerichtet, dafs rechteckige flache Zinkblechhülsen mit Zu- und Ableitungsrohr an ihrer Oberseite durch eine 0,8 mm dicke Glasplatte luftdicht abgeschlossen wurden. In diesen Behältern waren die Bakterienproben nebeneinander liegend untergebracht. Über den Glasdeckeln war eine durch federnde Klammern enganliegende Blechblende verschieblich angebracht, so dafs durch Vorschieben derselben von Zeit zu Zeit eine Bakterienprobe bedeckt und vor weiterer Lichteinwirkung geschützt werden konnte. Durch Auflegen von wiederholt in Eiswasser eingetauchten dicken Filterpapierbauschen auf die Blechblenden wurde eine Erhitzung derselben und der darunter befindlichen Bakterien hintangehalten.

Durch diese Behälter wurde einerseits Wasserstoff, andererseits atmosphärische Luft und endlich atmosphärische Luft mit Sauerstoffvermehrung in konstantem Strome durchgeleitet.

Versuch 307. 4. IX. 1906

Staphylococcus pyogenes aureus. 20 Stunden alte Kultur.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Lufttemperatur	Bewölkung	Chemische Lichtintensität	Wasserstoff	Atmosphär. Luft	Atmosphär. Luft + Sauerstoff
0	34,2	24,0	$S_1 B_0$ [1]	0,133	363 300	[illegible]3 300	363 300
1	41,0	24,5	»	0,833	195 300	2 304	512
2	51,2	26,0	»	1,250	126 000	10	25
3	52,2	27,0	»	0,909	992	5	59

1) Dunst.

Versuch 315. 6. IX. 1906.

Staphylococcus pyogenes aureus. 20 Stunden alte Kultur.

Expos.-Dauer in Stdn.	Wärme-strahlung	Lufttemperatur	Bewolkung	Chemische Licht-Intensität	Wasserstoff	Atmosphär. Luft	Atmosphär. Luft und Sauerstoff
0	46,0	25,0	S_4 B_0	1,000	840 000	840 000	840 000
1/2	46,5	25,0	»	0,909	789 600	621 600	378 000
1	47,4	26,0	»	0,909	588 000	138 600	116 340
1 1/2	50,8	26,0	»	1,250	672 000	4 620	3 360
2 1/4	49,0	26,5	S_4 B_1 [1])	0,750	—	5 460	50
3	34,0	26,5	S_4 B_7 [1])	0,333	457 800	228	4

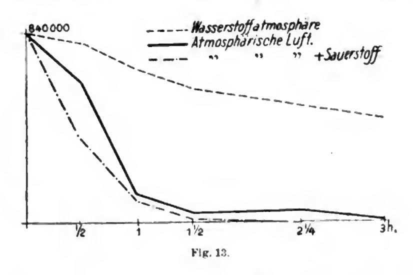


Fig. 13.

Auf Grund dieser Versuche müssen wir uns der früheren Ansicht anschliefsen, nach welcher die Abtötung bei Sauerstoffgegenwart rascher eintritt als in sauerstoffarmer Atmosphäre.

Roux ([24]), Duclaux ([19]), Chmelewsky ([53]), Billings und Peckham ([77]) und Kruse ([80]) beobachteten bei Belichtung von Nährmedien Veränderungen der letzteren und einzelne dieser Autoren, so Kruse, glaubten diese Veränderungen der Nährmedien wenigstens zum Teile für die Keimtötung durch Licht verantwortlich machen zu können. Dieudonné ([73]) berichtet, dafs bei Belichtung von Agar (nach 10 Minuten), Gelatine (nach 5 Stunden in Spuren), sowie von Wasser (nach 2 Stunden in Spuren) Wasserstoffsuperoxyd gebildet wird und

1) Federwolken.

schliefst aus dem Umstand, dafs dieses nur bei Gegenwart von Sauerstoff entsteht, Bakterien aber bei Sauerstoffmangel der Lichteinwirkung nur sehr langsam erliegen, dafs bei der Abtötung der Bakterien mindestens zum Teil das H_2O_2 beteiligt ist. Bie ([136]) bestätigt für eine Reihe von Nährsubstraten diesen Befund Dieudonnés, da aber in einer anderen Reihe von Substanzen keine Wasserstoffbildung stattfindet, die Bakterien aber in solchen suspendiert dennoch dem Lichte rasch erliegen, glaubt er nicht, dafs die Keime durch einen solchen Oxydationsprozefs vernichtet werden. Endlich berichten Thiele und Wolf ([140]), dafs bei der Belichtung der verschiedensten Nähr- und Suspensionsmedien keine Bildung von H_2O_2 stattfinde, daher die Lichtdesinfektion auch nicht auf einem Oxydationsprozefs beruhen könne. Auch mir fiel der Nachweis von H_2O_2 auf Agar nach der von Dieudonné angeführten Methode stets negativ aus. Nehmen wir aber an, die Bildung von H_2O_2 gehe bei Belichtung von stickstoffhaltigen Verbindungen wirklich vor sich, so wäre es nicht verständlich, warum Bakterien auf Agar und Gelatine gleich rasch zu grunde gehen, wenn nach Dieudonné auf ersterem bereits nach 10 Minuten, auf letzterer erst nach 5 Stunden Spuren von H_2O_2 nachzuweisen sind! Ebenso unverständlich wäre auch das Zugrundegehen von Bakterien im ausgetrockneten Zustande unter Lichtwirkung.

Wenn nun auch anzunehmen ist, dafs die bakterizide Wirkung des Lichtes nicht auf einem Oxydationsprozefs beruht, bleibt dennoch die Tatsache zu erklären, wieso die Abtötung in einer sauerstoffreichen Atmosphäre rascher verläuft als bei Sauerstoffmangel. Nun wissen wir, dafs bei fakultativen Anaerobien — und dazu gehören die meisten pathogenen Bakterien — das Wachstum bei Sauerstoffabschlufs langsamer verläuft als bei Gegenwart des Sauerstoffs. Es könnte daher möglich sein, dafs bei unseren Versuchen bei Sauerstoffgegenwart eine gesteigerte Teilungstendenz der Mikroben besteht und auf diese Weise Individuen von geringerer Resistenz entstehen (Resistenz jugendlicher neuentstandener Keime vgl. Absch. 4), die nun der Lichteinwirkung rascher erliegen, so dafs der Sauerstoff zunächst

nicht eine die Bakterienleiber zerstörende, sondern vielmehr eine aufbauende Oxydation veranlafst! Bei Versuchen mit angetrockneten Bakterien — die wegen der der Methode anhaftenden Mängel nicht als ganz zuverlässiger Beweis gelten können — in Sauerstoff- resp. Wasserstoffatmosphäre verlief die Abtötung durch Sonnenlicht stets gleich rasch, gleichgültig ob die Bakterien unter aeroben oder anaeroben Bedingungen gehalten wurden, ein Umstand, der zur Stütze des ausgesprochenen Erklärungsversuches herangezogen werden könnte.

Somit beruht die Sonnendesinfektion von Bakterien nach meiner Überzeugung nicht auf einem die Bakterienzelle destruierenden Oxydationsprozefs, und ich schliefse mich vielmehr der Ansicht aller jener an, die die Wirkung der Lichtstrahlen als eine direkt auf das Protoplasma der Bakterienzellen gerichtete Schädigung erklären.

18. Phototaxis.

Anläfslich der Besprechung der bakteriziden Wirkung des Sonnenlichtes als Desinfektionsmittel in der Natur, besonders der Flüsse, sagt A. Fischer ([119]): »In der freien Natur suchen alle beweglichen Bakterien, die in flüssigen Medien suspendiert sind, die ihnen am meisten zusagende Helligkeit auf, denn sie können ja schon hinter winzigen Wasserpflänzchen, hinter Schlammsplittern reichlich Schatten finden«. Er legt den beweglichen Bakterien somit eine freiwillige, »intendierte«, Ortsveränderung bei, die jene zur Erhaltung ihres Lebens unternehmen.

Phototaktische Bewegungen sind uns aus den Beobachtungen Engelmanns bei Bact. photometricum, sowie aus den Experimenten Winogradskys und Bejerinck mit zu den Chromatien gehörigen Mikroorganismen bekannt. Nach Fischer würde es auch Bakterien mit einer photophoben Bewegungstendenz geben!

Wenn ich auch die Anschauung teile, dafs schon kleinste korpuskuläre Elemente den Bakterien einen wirksamen Schutz vor dem Lichte zu bieten vermögen, so können wir den ersten Teil der These **Fischers** nur als eine unbewiesene Hypothese hinnehmen. Um Aufschlufs über diesen Punkt zu erlangen, stellte ich die nachfolgenden Versuche an.

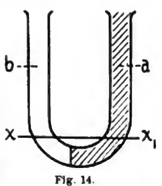


Fig. 14.

Ein Schenkel eines U-förmig gebogenen, dünnwandigen Glasrohres wurde mit lichtundurchlässigem Papier verklebt (a), während der zweite Schenkel (b) unverhüllt blieb. Dieses U-Rohr wurde bis zur Höhe $x x_1$ mit einer frischgewachsenen Bouillon-Typhuskultur gefüllt. Gleichzeitig wurden zwei Eprouvetten, von welchen eine in der oben erwähnten Weise gegen das Eindringen von Licht geschützt war, mit derselben Typhusaufschwemmung gefüllt und unter gleichen Bedingungen als Kontrollen dem Sonnenlichte exponiert. Aus beiden Schenkeln des U-Rohrs sowie aus den beiden Eprouvetten wurden nach bestimmten Intervallen mittels einer Platinöse je eine Probe entnommen und zu Agargufsplatten verarbeitet.

Nach der Ansicht Fischers müfsten logischerweise bei höheren Lichtintensitäten die Bakterien in den beschatteten Schenkel übergewandert sein, um daselbst vor den schädlichen Lichtstrahlen Schutz zu suchen, was sich nachträglich bei den Plattenzählungen in einem Mifsverhältnis der Keimzahlen geltend machen würde. Zur Kontrolle, ob nicht eine eventuelle geringere Keimzahl in einem der Schenkel einfach auf einer Abtötung der Keime durch das Licht beruhe, wurde der Parallelversuch mit den beiden (getrennten) Eprouvetten angestellt.

Versuch 99. 13. VI. 1905. Bact. typhi.

Expos.-Dauer in Stdn.	Bewölkung	Chem. Licht-intensität	Lufttemperatur	Temperatur der Bouillon	»U«-Rohr		Eprouvette	
					dunkel	licht	dunkel	licht
0	S_4 B_9	0,379	21,5	20,5	144 900	144 000	144 900	144 900
1/2	S_0 B_9	0,250	21,5	21,0	144 900	130 200	218 400	113 400
1	S_4 B_5	0,333	23,0	25,0	163 800	147 000	291 480	94 080
1 1/2	S_4 B_0	0,279	25,0	28,0	134 400	137 340	291 480	73 080
2	S_4 B_0	0,454	25,0	28,0	136 500	159 600	320 880	—
2 1/2	S_3 B_1	0,266	25,0	27,1	102 900	126 000	∞	33 800



Zu Versuch 99.

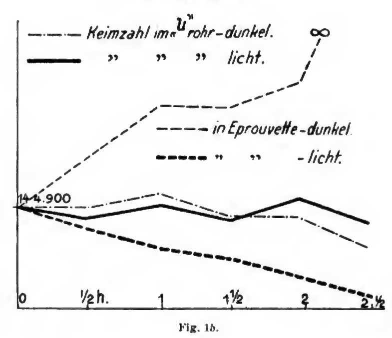


Fig. 15.

In der vor Licht geschützten Eprouvette war während der Versuchsdauer ein bedeutender Anstieg der Keimmenge (infolge Temperaturerhöhung!) eingetreten, während in der nicht verklebten Eprouvette ein merklicher Abfall der Keimzahlen sich einstellte. Im lichtgeschützten Schenkel des U-rohres fand im grofsen und ganzen keine Vermehrung der Keimzahl, gegen Ende des Versuches vielmehr ein leichtes Absinken derselben statt. Auffallend ist die Übereinstimmung der Keimmengen in den beiden Schenkeln des U-rohres; einem Abfall in dem einen Schenkel entspricht ein Abfall im zweiten, einem Anstieg der Keimzahl in dem einen auch ein Anstieg in dem andern Schenkel; Daraus geht wohl klar hervor, dafs ein Überwandern von Keimen aus dem sie schädigenden Lichte in den Schatten nicht stattfindet, im Gegenteil müssen wir an ein Überwandern in der entgegengesetzten Richtung denken als von Fischer angenommen wurde. Es besteht somit nicht eine Photophobie, sondern eine Phototaxis.

Die Beweglichkeit der Bazillen nimmt während der Versuche zu, offenbar infolge der eintretenden Temperaturerhöhung. In den Proben aus den belichteten Eprouvetten resp. in dem vor Licht nicht geschützten Schenkel des U-rohres, fielen im

hängenden Tropfen neben sehr lebhaft beweglichen relativ viele schlecht oder unbewegliche Bazillen auf.

Es entsteht die Frage wie wir dieses Überwandern deuten sollen, ob als gewollte Bewegung, allerdings in entgegengesetzter Richtung als Fischer annahm, oder als passive Bewegung infolge physikalischer Strömungen. Es könnte aber auch durch Absterben von Keimen im belichteten Schenkel mehr Nährmaterial frei werden und dies die Ursache für das Überwandern von Keimen in diesen Teil der Nährlösung sein. Über diese letztere Möglichkeit sollen uns Versuche Aufschlufs geben, bei welchen als Aufschwemmungsflüssigkeit statt Bouillon eine 0,9 % Kochsalzlösung verwendet wurde.

Versuch 104. 16. VI. 1905.
Bact. typhi. Temperatur der Kochsalzlösung in unverhüllter Eprouvette = 34°, in schwarz verklebter Eprouvette = 37° C.

Expos.-Dauer in Stdn.	Bewölkung	Chemische Licht-intensität	»U«-Rohr		Eprouvette	
			dunkel	licht	dunkel	licht
0	$S_4 B_0$	1,180	147 000	147 000	147 000	147 000
1/2	$S_4 B_1$	0,909	151 200	147 000	—	113 400
1	$S_4 B_0$	1,000	92 400	96 600	147 000	44 100
1 1/2	»	0,884	77 700	81 90[illegible]	111 300	35 280
2	»	0,833	—	69 30[illegible]	126 000	33 800
2 1/2	»	0,454	46 200	46 200	140 200	16 800
3	»	0,333	42 000	68 880	—	10 500
3 1/2	»	0,143	47 880	60 480	138 000	—
4	$S_3 B_0$[1])	0,105	34 240	58 000	—	12 600

In diesem Versuch fällt eine Vermehrungsmöglichkeit der Keime weg. Abermals findet eine ziemliche Übereinstimmung der Keimzahlen in den beiden Schenkeln des U-rohres statt, so dafs wir an einen Austausch der Keime in den beiden Partien mit der Richtung von Dunkel nach Licht denken müssen. Nachdem keine Vermehrung stattfindet, kann dieser Ausgleich der Keimmengen in den beiden Schenkeln des U-rohres nicht auf dem Aufsuchen von disponiblem Nährmaterial beruhen.

1) Leichter Dunst.

Um die beiden anderen Möglichkeiten — freiwilliges, allerdings höchst unzweckmäfsiges, Zustreben zum Licht oder passives Mitgerissenwerden durch Strömungen — entscheiden zu können, wiederholte ich dieselben Versuche mit einem unbeweglichen Bakterium (Staphylococcus pyog. aureus). Das Ergebnis war dasselbe wie bei den Versuchen mit Typhusbazillen.

Wir können daher sagen, dafs Bakterien, in Flüssigkeiten suspendiert, innerhalb eines geschlossenen Raumes der Einwirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt, nicht vor dem für sie schädlichen Lichte an einen dunklen Ort fliehen, um sich daselbst vor den Strahlen zu schützen, sondern dafs sich vielmehr die Keime in der Flüssigkeit stets gleichmäfsig verteilen, d. h. von dem lichtgeschützten Orte an den beleuchteten wandern. Diese Wanderung ist nicht als eine aktive, intendierte, sondern vielmehr als eine passive, wahrscheinlich durch physikalische Momente bedingte Bewegung anzusehen.

19. Die Bedeutung der Sonnendesinfektion in der Natur.

Am Schlusse dieser Arbeit möge noch die Bedeutung der Sonnendesinfektion in der Natur einer Erörterung unterzogen werden. Wir haben gesehen, dafs mannigfache Umstände die Lichtwirkung auf Bakterien beschleunigen resp. verzögern können, dafs angetrocknete Bakterien im allgemeinen weniger resistent sind als Keime im feuchten Zustande, dafs Bakterien, im »Hungerzustande« bestrahlt, viel rascher absterben, als wenn ihnen die Assimilationsmöglichkeit geboten ist, dafs höhere Lufttemperaturen die Lichtwirkung beschleunigen, sowie dafs Bakterien aus diesem Grunde auch in der Luft suspendiert sich länger halten, als wenn sie auf einer die Wärme absorbierenden Unterlage (Pflaster usw.) aufliegen, vorausgesetzt natürlich, dafs sie nicht am Boden durch schützende Decken (Staub, Kot usw.) vor direkter Bestrahlung bewahrt werden. Ferner haben wir erfahren, dafs die Keime bei höherem Feuchtigkeitsgehalt der

Atmosphäre langsamer zugrunde gehen als in trockener Luft, sowie dafs die absolute Abtötung im gesamten Tageslicht selbst bei dem sehr resistenten Staphylococcus pyog. aureus innerhalb kürzerer Zeit (2—2½ Stunden) eintritt, als die tägliche Dauer der direkten Sonnenstrahlung im allgemeinen (Frühjahr, Sommer und Frühherbst) beträgt. Endlich sahen wir noch, dafs auch relativ geringe Lichtintensitäten und selbst solche Intensitäten, wie sie dem diffusen Lichte zukommen, deutliche bakterizide Kraft besitzen, dafs auch sehr niedrige Intensitäten Bakterien derart schädigen können, dafs eine nachfolgende kräftigere Sonnenstrahlung eine gesteigerte bakterizide Wirkung auslöst, und dafs auch zeitlich getrennte Bestrahlungen sich in ihrer Wirkung summieren. Schon des öftern habe ich hervorgehoben, dafs die Bakterien sich bei unseren Versuchen unter weit günstigeren Bedingungen befinden als in der Natur, da ja eine Reihe dieser die Einwirkung der Sonnenstrahlen begleitenden Momente in der Natur in wechselnder Kombination die ohnedies bedeutende bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes unterstützen. Wir müssen daher dem Sonnenlichte in der freien Natur eine ganz beträchtliche desinfizierende Wirkung einräumen.

In der nachfolgenden Kurve sei die mittlere Lichtintensität und Sonnenscheindauer innerhalb der einzelnen Monate eines Jahres durch die jeweilige Sonnenhöhe veranschaulicht.

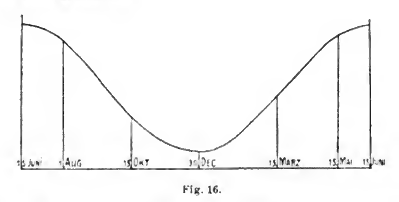


Fig. 16.

Diese desinfizierende Wirkung des Sonnenlichtes wird sich aber vornehmlich in den Sommermonaten sowie im Frühjahr und Frühherbst (siehe vorstehende Kurve der Lichtintensitäten während des Jahres) bei hoher Lichtintensität und hoher Aufsen-

temperatur geltend machen, während im Spätherbst, Winter und in der Übergangszeit vom Winter zum Frühjahr (Schneeschmelze) die Bakterien den geringsten Schädigungen ausgesetzt sind. Die Temperaturen sind in jenen Zeiten niedrig, also für die Erhaltung der Keime günstig. Die Lichtintensitäten sind ebenfalls sehr gering, werden daher auch nur eine geringe oder sogar überhaupt keine Schädigung der Bakterien verursachen. Neben diesen für das Bakterienleben günstigen Bedingungen findet in diesen Jahreszeiten infolge häufiger Nebel und sonstiger Niederschläge meist eine starke Überladung der Atmosphäre mit Wasserdampf statt, wodurch abermals eine Abschwächung der zu diesen Zeiten ohnehin geringen Lichtintensitäten (vgl. Abschn. 6) bedingt wird. Infolge des höheren Feuchtigkeitsgehaltes der Luft werden aber die Keime auch länger in der Luft schwebend erhalten (4—6 Stunden) [1]).

Werden aber Keime in ihrer Lebensenergie wenig oder gar nicht geschädigt und bleiben dieselben lange Zeit in der Luft schwebend, so ist auch die Infektionsmöglichkeit während dieser Zeiten (Spätherbst bis Frühjahr) eine grofse. Und in der Tat finden wir auch während dieser Monate das gehäufte Auftreten von Erkrankungen, der Respirationsorgane, resp. von Erkrankungen bei welchen die Infektion auf dem Wege des Respirationstraktes stattfindet. [2])

Ebenso wie die genannten meteorologischen Faktoren während eines Jahres schwanken, finden auch während der verschiedenen Jahre solche oft sehr bedeutenden Unterschiede statt (vgl. Abschn. 1). Waren schon Berger ([89]) und Ruhemann ([93, 94]) bestrebt das Auftreten von Epidemien resp. Pandemien mit derartigen Verhältnissen in Zusammenhang zu bringen (Ruhemann, Influenzaepidemie 1889), so ist es höchst auffallend, dafs abermals in den Jahren 1904/05 bei reichlichem Nebel im Herbst und Winter ungemein geringe Lichtintensitäten herrschten (vgl. Abschn. 1) und gerade in diesen Jahren die letzten Meningitisepidemien mit aller Kraft einsetzten!

---

1) vgl. Flügge ([84]) ([127]), Hutchison ([106]).
2) vgl. Behrens ([113]).

Finden wir nun, dafs innerhalb des Jahres die Zahl jener Erkrankungen, die auf dem Wege des Respirationstraktes entstehen, gerade während jener Monate am stärksten ansteigt während welcher die Lichtintensität enorm sinkt, diese Erkrankungen mit dem Zunehmen der Lichtintensitäten (vgl. Kurve auf S. 89) im Sommer wieder stark abnehmen, finden wir weiter, dafs das Auftreten gewisser Epidemien (Influenza, Meningitis) meist in Jahre fällt, während welcher die Lichtintensitäten besonders gering waren, so werden wir einen Zusammenhang von Epidemie und Lichtdesinfektion nicht von der Hand weisen können.

Den Ausgangspunkt für die Infektion bildet dabei stets der Mensch als natürlicher Bazillenträger. Wissen wir doch, dafs Influenzabazillen sich lange Zeit in phthisischen Kavernen lebensfähig erhalten, sowie dafs Meningokokken gelegentlich im Nasensekret Gesunder angetroffen werden. Ist nun die Luftfeuchtigkeit grofs, die Lichtintensität gering, so werden solche verspritzte Keime (die überdies gegen äufsere Schädigungen sehr empfindlich sind) einerseits längere Zeit lebensfähig bleiben, anderseits aber auch längere Zeit in der Luft frei schweben, wodurch eine Übertragung auf einen neuen Bazillenträger erleichtert wird. Damit ist aber, wie ich betonen will, der Vorgang der Infektion noch nicht vollständig erklärt, da ja auch im infizierten Individuum Veränderungen vor sich gehen müssen, durch welche das Eindringen von Keimen in das Gewebe ermöglicht wird. Ob aber nicht der menschliche Organismus gerade durch solche klimatische Bedingungen, wie sie besonders in den in Rede stehenden Jahreszeiten herrschen, für die Auslösung einer Infektion disponiert wird (Erkältung im weitesten Sinne), ist eine Frage, die einer Berücksichtigung wert ist. Dazu kommt noch, dafs Keime, die von einem erkrankten Individuum versprengt werden, in Analogie mit der Virulenzsteigerung von Bakterien durch Tierpassage ebenfalls eine Steigerung ihrer Vitalität und Virulenz

erfahren haben dürften und dadurch neuerdings eine erhöhte Infektionsmöglichkeit bedingen.

Endlich spricht auch das periodische Auftreten von Epidemien (Influenza z. B.) nicht gegen sondern eher für unsere Annahme, da ja auch in der Natur eine gewisse periodische Wiederkehr von abnormen meteorologischen Zuständen beobachtet wird.

20. Resumé:

1. Die Keimmenge hat auf den zeitlichen Verlauf der Abtötung von Bakterien durch das Licht keinen Einflufs; vielmehr tritt die absolute Abtötung bei verschiedener Keimzahl gleichzeitig ein.
2. Innerhalb verschieden dichter Keimmengen findet ein proportionales Absterben der Keime statt, welches auf dem variierenden Resistenzgrad der einzelnen Individuen beruht.
3. Diese wechselnde Resistenz ist (zu mindest zum Teile) von dem Alter der Keime abhängig.
4. Die höchste Resistenz gegenüber dem Lichte erlangen Bakterien im Alter von 7—20 Stunden und diese scheint durch mehrere Tage unvermindert erhalten zu bleiben, um dann wieder abzunehmen.
5. Bakterien sind gegen Licht im trockenen Zustande weniger resistent als im feuchten. Die Resistenz ist von dem Medium, in welchem die Bakterien eintrocknen, abhängig.
6. Bei höherer Luftfeuchtigkeit sterben Bakterien langsamer ab als bei geringem Feuchtigkeitsgehalt der Atmosphäre. Dieses langsamere Absterben dürfte mit einer stärkeren Absorption der Sonnenstrahlen in der Atmosphäre zusammenzuhängen.
7. Werden Bakterien im feuchten Zustande dem Sonnenlichte exponiert und finden sie nicht die Möglichkeit Nährstoffe zu assimilieren, so erliegen sie rascher der Lichteinwirkung als bei ermöglichter Nahrungszufuhr.

8. Alle Teile des Sonnenspektrums besitzen bakterizide Wirkung, sowohl die sichtbaren Strahlen einschliefslich den roten als auch die unsichtbaren Strahlen.
9. Unter den unsichtbaren Strahlen wirken nicht allein die ultravioletten sondern auch die ultraroten Strahlen bakterientötend.
10. Die ultraroten Strahlen stehen den kurzwelligen Strahlen an bakterizider Kraft nicht nur nicht nach, sondern scheinen dieselben sogar zu übertreffen.
11. Die stärkste Wirkung kommt dem unzerlegten Lichte zu.
12. Auch künstlich erzeugte langwellige Strahlen vernichten Bakterien, ohne dafs die Abtötung der Keime auf einer schädigenden Temperaturerhöhung beruht.
13. Die begleitende Lufttemperatur beeinflufst in hohem Mafse die Wirkung des Lichtes. Hohe Aufsentemperaturen unterstützen, niedrige Aufsentemperaturen mildern die bakterizide Kraft des Sonnenlichtes.
14. Infolge des Einflusses der die Bakterien umgebenden Temperatur auf den Abtötungsprozefs durch das Licht verhalten sich Bakterien, in der Luft exponiert, resistenter als Bakterien, die auf einer festen, Wärme absorbierenden Unterlage aufliegen.
15. Bei intermittierender Bestrahlung ist der Effekt gleich der Summe der Bestrahlungszeiten.
16. Die Wirkung des Lichtes setzt mit dem Moment der Bestrahlung ein und hört in gleicher Weise mit dem Moment des Aussetzens der Bestrahlung auf.
17. Auch sehr kurz dauernde Bestrahlungszeiten bei intermittierender Bestrahlung (von hundertstel Sekunden) verursachen eine Schädigung der Bakterien.
18. Die chemische Leistungsfähigkeit der Bakterien (Gelatineverflüssigung, Schwefelwasserstoffbildung, Zuckervergärung, Trimethylaminbildung) wird durch das Licht nicht geschwächt.

19. Die Virulenz bleibt (bei Bac. pneumoniae) bis zur vollständigen Vernichtung der Bakterienzelle durch das Sonnenlicht erhalten.
20. Die verschiedenen Gruppen pathogener Bakterien besitzen einen wechselnden Resistenzgrad gegenüber dem Licht.
21. Normaler Weise in der freien Natur lebende Spaltpilze (Luftkeime) werden durch das Sonnenlicht nicht geschädigt.
22. Die Wirkung des gesamten Tageslichtes ist stärker als die des direkten Sonnenlichtes und setzt sich aus der Wirkung des direkten Sonnenlichtes und des diffusen Tageslichtes zusammen.
23. Die bakterizide Wirkung des Sonnenlichtes hängt in erster Linie von der Lichtintensität ab, wobei es gleichgültig ist, ob direktes Sonnenlicht oder aber reflektierte Strahlen (diffuses Tageslicht) auf die Bakterien treffen.
24. Auch geringe Lichtintensitäten haben bei der Sonnendesinfektion eine Bedeutung, da höhere Lichtintensitäten Bakterien, die vorher der Einwirkung niedriger Intensitäteten ausgesetzt waren, viel rascher als vorher unbestrahlte Bakterien zerstören.
25. Die Bakterien, auch die beweglichen Arten, haben in flüssigen Medien nicht die Eigenschaft, der für sie verderblichen Lichteinwirkung zu entfliehen; vielmehr streben sie dem Lichte zu.
26. Dieses Zustreben zum Lichte (Phototaxis) ist nicht als eine »gewollte« Ortsveränderung anzusehen, sondern scheint vielmehr durch physikalische Strömungen bedingt zu sein.
27. Die Abtötung von Bakterien durch das Licht verläuft bei Sauerstoffgegenwart rascher als in sauerstoffreier Atmosphäre.
28. Die desinfizierende Wirkung des Sonnenlichtes beruht auf einer direkt auf das Protoplasma der Bakterienzelle gerichteten Schädigung.

29. Die Sonnendesinfektion kommt in unseren Wohnräumen gar nicht oder nur in untergeordnetem Maſse zur Wirkung.
30. In der freien Natur spielt die Sonnendesinfektion eine nicht zu unterschätzende Rolle.
31. Das Auftreten von sporadischen als auch von epidemischen Erkrankungen, für welche der Respirationstrakt als Eintrittspforte dient, scheint mit der Sonnendesinfektion in engem Zusammenhang zu stehen.

Nachtrag.

Zu Absch. 14, S. 71. Diese Ansicht wird auch durch die Untersuchungen M. Martins[1]), die nach Abschluſs meiner Arbeit veröffentlicht wurden, bestätigt. Martin berichtet nämlich, daſs in den Tropen eine gewisse Bakterienarmut hinsichtlich der pathogenen Arten bestehe, welche auf der bakterientötenden Wirkung der Sonne beruhe, während eine Zahl nichtpathogener Keime durch die Sonne unbeeinfluſst bleiben.

[1]) Max Martin, Studien über den Einfluſs der Tropensonne auf pathog. Bakterien. Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 51,

Literaturverzeichnis.

1. Downs and Blunt, Researches on the effect of light upon Bacteria and other Organisms. Proceedings of the Roy. Soc. of London. 1877. Bd. 26, Nr. 184.
2. —, On the influence of light upon protoplasm. Proceedings of the Roy. Soc. of London. 1878. Bd. 28, Nr. 191.
3. Tyndall, Note on the influence exercised by light on organic infusions. Proceedings of the Roy. Soc. of London. 1878. Bd. 28, Nr. 191.
4. —, On the arrestation of infusorial life. Nature. 1881. Bd. 24, Nr. 620.
5. Jamieson, The influence of light on the developement of Bacteria. Nature. 1882. Bd. 26, Nr. 663.
6. —, The influence of light on the Bacteria. Transact. and Proceed. of the Roy. Soc. of Victoria. 1882. Bd. 20.
7. Engelmann, Bact. photometricum, ein Beitrag . . . . . . Pflügers Archiv f. Physiol. 1883. Bd. 30.
8. Kny, Die Beziehungen des Lichtes zur Zellteilung bei Saccharomyces cerevisiae. Ber. d. deutsch. bot. Ges. II. 1884.
9. Nocard, Recueil de médecine vétérinaire. 1885.
10. Arloing, Influence de la lumière sur la végétation et les propriétés pathogènes du Bacillus anthracis. Comptes rendus. Paris 1885. Bd. 100.
11. —, Influence du soleil sur la végétation, la végétabilité et la virulance des cultures du B. anthracis. Comptes rendus. Paris 1885. Bd. 101.
12. —, Influence du soleil sur la végétabilité des spores du Bac. anthracis. Comptes rendus. Paris 1885. Bd. 101.
13. —, Influence de la lumière blanche et ses rayons constituants sur le développement et les propriétés du Bac. anthracis. Arch. de physiol. normale et pathologique. 1886. Bd. 7, Heft 3.
14. —, Les spores du Bacillus anthracis sont réellement tuées par la lumière solaire. Comptes rendus. 1887. Bd. 104, Nr. 10.
15. Duclaux, Influence de la lumière du soleil sur la végétation et les propriétés pathogènes du Bac. anthracis. Comptes rendus. 1885. Bd. 100.
16. —, Influence de la lumière du soleil sur la vitalité des germes des microbes. Comptes rendus. 1885. Bd. 100.
17. —, Sur la durée de la vie chez les germes des microbes. Ann. de chimie et de physiol. 1885.
18. —, Influence de la lumière du soleil sur la vitalité de micrococcus. Comptes rendus. 1885. Bd. 101.
19. —, Action de la lumière sur les microbes. Ann. de l'Institut Pasteur. 1887. Nr. 2.
20. Klein, Über die Ursachen der ausschliefslichen nächtlichen Sporenbildung von Botrytiscinerea. Botan. Ztg. 1885.
21. Lübbert, Der Staphylococcus pyog. aureus und der Osteomyelitiscoccus . . . Würzburg. Dissert. 1886.

22. Downs, On the action of sunlight on microorganisms.... Proceed. of the Roy. Soc. of London. 1886. Bd. 40.

23. Straufs, De l'action des rayons lumineux sur les microbes. Soc. de biolog. 1886.

24. Roux, De l'action de la lumière et de l'air sur les spores de la bactéridie du charbon. Ann. de l'Institut Pasteur. 1887. Nr. 9.

25. Engelmann, Die Purpurbakterien in ihrer Beziehung zum Licht. Botan. Ztg. 1888. Nr. 42—45.

26. Gaillard, De l'influence de la lumière sur les microorganismes. Lyon. 1888. (Ref. Ztg. f. Hyg., Bd. 6.)

27. Prove, Le micrococcus ochroleucus. Ann. de l'Institut Pasteur. 1888.

29. Daudrieu, Influences de la lumière dans la destruction des bactéries pour servir à l'étude du tout à l'égout. Ann. d'Hygiène, 1888. Heft 3.

30. Raum, Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse über den Einflufs des Lichtes auf Bakterien..... Zeitschr. f. Hyg., 1889. Bd. 6.

31. Laurent, Influence de la lumière sur les spores du charbon des céréales. Comptes rendus de la Soc. Roy. de Botan. de Belg. 1889. Bd. 28.

32. Onimus, Action de la lumière sur les microbes. Thèse de Paris, 1889.

33. Uffelmann, Hygienische Bedeutung des Sonnenlichtes. Wiener klin. Wochenschr., 1889. Heft 3.

34. Santori, L'influenza della temperatura sull'azione microbicida della luce. Ann. dell'istituto d'igiene. Roma 1889. Bd. 2.

35. Pansini, Dell'azione della luce solare sui microorganismi. Boll. d. Soc. di naturalisti. Neapel 1890.

36. Janowski, Zur Biologie des Typhusbazillus. Zentralbl. f. Bakt., 1890. Bd. 8.

37. Elfoing, Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze. Helsingfors 1890.

38. Giunti, Sull'azione della luce sulla fermentazione acetica. Stazione speriment. agr. ital. 1890. Bd. 18.

39. Koch, Vortrag auf dem X. internationalen Kongrefs. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. I.

40. Laurent, Etude sur la variabilité du bacillus rouge de Kiel. Ann. de l'Institut Pasteur. 1890.

41. Raspe, Einflufs des Sonnenlichtes auf Mikroben. Schwerin. Dissert. 1891.

42. Martinaud, Influence des rayons solaires sur les levures que l'on rencontre à la surface des raisins. Comptes rendus de l'Académie des sciences. 1891. Bd. 113.

43. Frankland and Ward, First Report to the Water Research Commitee of the Royal Soc...... Proceed. of the Roy. Soc. London. 1892. Bd. 51.

44. Geisler, Zur Frage über die Wirkung des Lichtes auf Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. 1892. Bd. 11.

45. Buchner, Über den Einflufs des Lichtes auf Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. 1892. Bd. 11.
46. — Über den Einflufs des Lichtes auf Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. 1892. Bd. 12.
47. —, Über den Einflufs des Lichtes auf Bakterien und über Selbstreinigung der Flüsse. Arch. f. Hyg. 1893. Bd. 17.
48. Palermo, Azione della luce solare sulla virulenza del bacillo del colera. Ann. dell'istituto d'igiene sperm. Rom. 1893. Bd. 4.
49. Duclaux, Sur les analogies entre les procès de fermentation et de combustion solaire. Ann. de l'inst. Pasteur. 1893.
50. Koltjar, Zur Frage über den Einflufs des Lichtes auf Bakterien. Wratsch. 39—40. (Ref. Zentralbl. f. Bakt. 1892. Bd. 12.)
51. Fermi und Celli, Beitrag zur Kenntnis des Tetanusgiftes. Zentralbl. f. Bakt. 1892. Bd. 12.
52. Momont, De la dissecation, de l'air et de la lumière sur la bactéridie charbonneuse filamenteuse. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1892. Bd. 6, Nr. 1.
53. Chmelewsky, Zur Frage über die Wirkung des Sonnen- und elektrischen Lichtes auf Eiterbakterien. Wratsch. 1892. Bd. 20 (Ref. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 12).
54. Richardson, Über die in der Verhütung von Fäulnis und der Bildung von Wasserstoffsuperoxyd bestehende Wirkung des Lichtes auf organische Substanzen enthaltende Flüssigkeiten. Ref.-Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1893.
55. Boubnoff, Photometrische Tageslichtmessungen in Wohnräumen. Arch. f. Hyg. 1893. Bd. 17.
56. Ledoux-Lebard, Action de la lumière sur le bacille diphthérique. Arch. de Médecine expérim. et d'Anatomie pathol. 1893.
57. Schickhardt, Über die Wirkung des Sonnenlichtes auf den menschlichen Organismus und auf Mikroben. Friedreichs Blätter f. gerichtl. Med. . . . . 1893. Bd. 44.
58. Ward, Experiments on the action of light on Bacillus anthracis. Proceed. of the Roy. Soc. of London. 1894. Bd. 53.
59. — The action of light on Bacteria III. Proceed. of the Roy. Soc. of London. 1894. Bd. 54.
60. —, Experiments on the action of light on Bacillus anthracis. Proceed. of the Roy. Soc. of London. 1893. Bd. 52.
61. —, Further experiments on the action of light on Bac. anthracis . . . . . Proceed. of the Roy. Soc. of London. 1894. Bd. 56.
62. Ransome and Delépine, On the influence of certain natural agents on the virulence of the Tubercle Bacillus. Proceed. of the Roy. Soc. of London. 1894. Bd. 56.
63. Wesbrook, Some of the effects of sunlight on Tetanus cultures. Journ. of Path. a. Bact. 1894/95. III.
64. D'Arcy and Hardy, Note on the oxidising powers of different regions of the spectrum in relation to the bactericidal action of light and air. Journ. of Physiol. 1894/95. Bd. 17.

65. Charrin, Agents atmosphériques et les bactéries. Semaine medic. 1894. (Ref. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 14.)
66. J. Wiesner, Photometrische Untersuchungen auf pflanzenphysiol. Gebiete. Sitzungsb. d. Kais. Ak. d. Wiss. in Wien. 1893. Bd. 102.
67. —, Untersuchungen über das photochemische Klima von Wien, Kairo und Buitenzorg. Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. 1896. Bd. 64.
68. Finsen, Les rayons chimiques et la variole. Semaine médicale. 1894.
69. Green, The influence of light on diastase. Ann. of Boston. 1894. (Ref. Zentralbl. f. Bakt.)
70. v. Esmarch, Über Sonnendesinfektion. Zeitschr. f. Hyg. 1894. Bd. 16.
71. Kruse, Beiträge zur hygienischen Beurteilung des Wassers. Zeitschr. f. Hyg. 1894. Bd. 17.
72. D'Arsonval et Charrin, Influence des agents atmosphériques, en particulier de la lumière et du froid, sur le bacille pyocyanique. Arch. de physiol. normale et pathol. 1894. Bd. 5.
73. Dieudonné, Beiträge zur Beurteilung der Einwirkung des Lichtes auf Bakterien. Arb. aus d. Kais. Gesundheitsamte. 1894. Bd. 9.
74. —, Über die Bedeutung des Wasserstoffsuperoxyds auf die bakterientötende Kraft des Lichtes. Arb. aus d. Kais. Gesundheitsamte. 1894. Bd. 9.
75. Migneco, Azione della luce solare sulla virulenza del Bac. tubercolare. Ann. dell'istituto d'igiene sperim. Rom 1895. Bd. 5.
76. Masella, Influenza della luce solare diretta sulle infezioni nelle cavie coi bacilli del colera asiat. et dell'ileo-tifo. Ann. dell'istituto d'igiene. sperim. Rom 1895. Bd. 5.
77. Billings and Peckham, The influence of certain agents in destroying the vitality of the typhoid .... Science 1895. (Ref. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 19.)
78. Piazza, Sull'influenza della luce solare sulla tossina difterica. Ann. dell'istituto d'igiene sperim. Rom 1895. Bd. 5.
79. Wesbrook, The growth of Cholera bacilli in direct sunlight. Journ. of Pathol. 1896. Bd. 3.
80. Kruse, Über die hygien. Bedeutung des Lichtes. Zeitschr. f. Hygiene. 1895. Bd. 19.
81. Beck und Schulze, Über die Einwirkung sog. monochromatischen Lichtes auf die Bakterienentwicklung. Zeitschr. f. Hyg. 1896. Bd. 23.
82. Wittlin, Über die Einwirkung der Sonnenstrahlen auf den Keimgehalt des Strafsenstaubes. Wiener klin. Wochenschr. 1896.
83. Schreiber, Über die physiol. Bedingungen der endogenen Sporenbildung .... Zentralbl. f. Bakt. 1896. Bd. 20.
84. Flügge, Über Luftdesinfektion. Zeitschr. f. Hyg. 1897. Bd. 25.
85. Blaisie et Sambuc, De l'action des rayons X sur le Pyocyaneus et la bactéridie charboneuse. Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1897. Nr. 25.
86. Pott, Concerning the action of X rays on cultivations of tubercle bacillus. Th. Lancet. 1897. Nr. 21.

87. Wolfenden and Forbes-Ross, A preliminary note on the action of Roentgen rays upon the growth and activity of bacteria and microorganismus. The Lancet. 1898.

88. Ficker, Über Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. Zeitschr. f. Hyg. 1898. Bd. 29.

89. Berger, Die Bedeutung des Wetters für ansteckende Krankheiten. Therap. Monatshefte. 1898. Nr. 3, 4.

90. Weyl, Handbuch der Hygiene.

91. Rieder, Wirknng der Röntgenstrahlen auf Bakterien. München. med. Wochenschr. 1898. Nr. 4.

92. —, Weitere Mitteilnngen über die Wirknng der Röntgenstrahlen auf Bakterien. München. med. Wochenschr. 1898. Nr. 25.

93. Ruhemann, Meteorologie und Infektionskrankheiten. Zeitschr. f. diät. u. physik. Therap. 1898.

94. —, Ist Erkältung eine Krankheitsursache und inwiefern? Leipzig 1898.

95. Mitchell n. Crouct, Einflufs des Sonnenlichtes auf Tuberkelbazillen. Ref. Hygienische Rundschau. 1899.

96. Kedzior, Über den Einflufs des Sonnenlichtes auf Bakterien. Arch. f. Hyg. 1899. Bd. 36.

97. Rieder, Therap. Versuche mit Röntgenstrahlen bei infektiösen Prozessen. Münch. med. Wochenschr. 1899. S. 950.

98. Krause, Beiträge zur Kenntnis des Bac. pyocyaneus. Zentralbl. f. Bakt. 1900. Bd. 27, S. 771.

99. Drigalski, Zur Wirkung der Lichtwärmestrahlen. Zentralbl. f. Bakt. 1900. Bd. 27, S. 788.

100. Boeder, Znr Frage der Heilkraft des Lichtes. Arb. aus d. Kais. Gesundheitsamte. 1900. Bd. 17.

101. A. Fischer, Die Empfänglichkeit der Bakterienzelle und das bakterizide Serum. Zeitschr. f. Hyg. 1900. Bd. 34.

102. Bie, Untersnchungen über die bakterientötende Wirkung der verschiedenen Abteilungen des Spektrums. Mitteilnng. aus Finsens Lichtinstitut. 1900. Bd. 1.

104. —, Über das Vermögen des Lichtes, Sprofs- und Schimmelpilze zu töten. Ibidem. 1900. Bd. 1.

105. Larsen, Haben die verschiedenen Bakterienarten dieselbe Widerstandskraft dem Lichte gegenüber? Ibidem. 1900. Bd. 1.

106. Aschkinas u. Caspari, Über den Einflufs dissoziierender Strahlen auf organische Substanzen, insbesonders über die bakterienschädigende Wirkung der Becquerel-Strahlen. Arch. f. Physiol. (Pflüger). 1901. Bd. 86.

107. Jousset, Action de la lumière solaire et de la lumière e diffus sur le bacille de Koch .... La semaine médicale 1900.

108. Hutchison, Die Verbreitung von Keimen durch gewöhnliche Luftströme. Zeitschr. f. Hyg. 1901. Bd. 36, Heft 2.

109. Görl, Zur Lichtbehandlung mit ultravioletten Strahlen. Münch. med. Wochenschr. 1901. Nr. 19.

110. Drofsbach, Zur modernen Lichttherapie. Deutsche med. Wochenschr. 1901. Nr. 47.

111. Zeit, Effect of direct alternating Tesla-currents and X-rays on bacteria. The Journ. of the American med. Assoc. 1901.

112. Strebel, Untersuchungen über die bakterizide Wirkung des Hochspannungsfunken. Deutsche med. Wochenschr. 1901. S. 69.

113. Behrens, Einflufs der Witterung auf Diphtherie, Scharlach .... Arch. f. Hyg. 1901. Bd. 40.

114. Kattenbracker, Abtötung der Gonokokken durch elektrisches Licht. Deutsche Zeitschr. f. Chir. 1902. Bd. 62.

115. Bang, Die Wirkung des Lichtes auf Mikroorganismen. Mitteilungen aus Finsens Lichtinstitut. 1901. Bd. 2.

116. Kirstein, Über die Dauer der Lebensfähigkeit von Krankheitserregern in Form feinster Tröpfchen und Stäubchen. Zeitschr. f. Hygiene. 1902. Bd. 39.

117. Maximow, Über den Einflufs des Lichtes auf die Atmung niederer Pilze. Zentralbl. f. Bakt. 1902.

118. v. Székely, Beitrag zur Lebensdauer von Milzbrandsporen. Zeitschr. f. Hygiene. 1903. Bd. 44.

119. A. Fischer, Vorlesungen über Bakterien. 1903.

120. Bie, Über die Einwirkung des Lichtes auf Bakterien. Mitteilung. aus Finsens Lichtinstitut. 1903. Bd. 3.

121 — Über die Absorption ultravioletter Strahlen durch blaue Flüssigkeiten. Ibidem. 1903. Bd. 3.

122. Finsen und Dreyer, Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf Pockenvaccine. Ibidem. 1903 Bd. 3.

123. Bang, Über die Wirkung des Lichtes auf Mikroben. Ibidem. 1903. Bd. 3.

124. Busck, Beitrag zu den Untersuchungen über die Durchstrahlungsmöglichkeit des Körpers. Ibidem. 1903. Bd. 3.

125. Jansen, Untersuchungen über die Fähigkeit der bakteriziden Lichtstrahlen durch die Haut zu dringen. Ibidem. 1903. Bd. 3.

126. Fermi, Über eine eigentümliche schädliche Wirkung der Sonnenstrahlen während gewisser Monate des Jahres und ihre Beziehung zur Coryza, Influenza etc. Arch. f. Hyg. 1904. Bd. 48.

127. Flügge, Untersuchungen über die hygienische Bedeutung einiger klimatischer Faktoren, insbesondere des Windes. Jena, Festschrift f. R. Koch. 1904. (Ref. Zentralbl. f Bakt. Bd. 35.)

128. Busck, Über die relative Penetrationsfähigkeit der verschiedenen Spektralstrahlen gegenüber dem tierischen Gewebe. Mitteil. aus Finsens Lichtinstitut. 1903. Bd. 4.

129. Jansen, Über die Widerstandsfähigkeit der Bakteriensporen gegenüber dem Licht. Ibidem. 1903. Bd. 4.

130. Bang, Über die Wirkung des elektr. Bogenlichtes auf Tuberkelbazillen in Reinkultur. Ibidem. 1904. Bd 7.

131. Bie, Methoden zur Messung der bakteriziden Wirkung des Lichtes Ibidem. 1904. Bd. 7.
132. —, Über die bakterizide Wirkung ultravioletter Strahlen. Ibidem. 1904. Bd. 7.
133. —, Die Gewöhnung der Bakterien an Belichtung. Ibidem. 1904. Bd. 7.
134. Busck, Lichtbiologie. Ibidem. 1904. Bd. 8.
135. Bie, Ist die bakterizide Wirkung des Lichtes ein Oxydationsprozefs? Ibidem. 1905. Bd. 9.
136. —, Ist die bakterizide Fähigkeit des Lichtes auf eine direkte Einwirkung .... Ibidem. 1905. Bd. 9.
137. —, Die desinfizierende Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds. Ibidem. 1905. Bd 9.
138. Bang, Über die Verteilung bakterizider Strahlen im Spektrum des Kohlenbogenlichtes. Ibidem. 1905. Bd. 9.
139. Rufs, Einiges über den Einflufs der Röntgenstrahlen auf Mikroorganismen. Arch. f. Hyg. 1906. Bd. 56.
140. Thiele und Wolf, Über die Abtötung von Bakterien durch Licht Arch. f. Hyg. 1906. Bd. 57.

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung der Tetanusbazillen und ihrer Gifte vom Magendarmtraktus aus.

Von

Dr. **Markus Rabinowitsch.**

(Aus dem königl. Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Einleitung.

Je mehr unsere Kenntnisse über das Wesen und die verschiedenen Eigenschaften der Bakterien sich häufen, um so deutlicher tritt zutage, von welch grofser Bedeutung die Erforschung der Art und Weise der Beeinflussung dieser Besonderheiten sein kann.

Und dafs die verschiedensten Eigenschaften der Bakterien nicht etwas Konstantes, sondern etwas mehr oder weniger leicht Veränderliches ist, das ist wiederholt von vielen Forschern für die meisten Bakterien direkt experimentell nachgewiesen worden, und fortwährend wurden immer neue Beweise dafür geliefert.

Solche Beweise wurden für die morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten der Bakterien geliefert, aber besonders zahlreich sind die über ihre pathogene Natur gemachten Erfahrungen, da auf diese hauptsächlich die meisten Forscher ihre Aufmerksamkeit gelenkt haben.

Schon vor 25 Jahren hat Koch[1]) darauf hingewiesen, dafs die Pathogenität der Bakterien und ihre Infektionstüchtigkeit von

1) Mitteilungen des Kaiserl. Gesundheitsamtes, Bd. 1.

verschiedenen Umständen abhängig und streng voneinander zu trennen sind, denn: »Die Eigenschaften pathogen und infektiös decken sich nicht, und wenn ein Parasit als pathogen erkannt ist, dann mufs aufserdem noch experimentell bestimmt werden, ob er zugleich übertragbar ist oder nicht.... Allmählich hat indes die Erfahrung gelehrt, dafs es durchaus nicht gleichgültig ist, welche Tierspezies zu den Infektionsversuchen gewählt wird, und dafs überdies die Art und Weise der Übertragung von gröfstem Einflufs auf das Gelingen des Experimentes ist.« Und einige Zeilen weiter fügt Koch noch hinzu: »Sehr merkwürdig ist in dieser Beziehung auch das verschiedene Verhalten von Tieren derselben Gattung, aber von verschiedenem Alter.«[1])

Dafs auch die Rasse der Tiere, ihre individuellen Besonderheiten, wie auch der Nährboden, auf dem die Keime gezüchtet werden, und deren Menge entscheidend für den Ausgang der Infektion sein können, hat Koch in derselben Arbeit hervorgehoben.

Die späteren Erfahrungen haben gelehrt, dafs alle diese von Koch aufgestellten Sätze für fast alle pathogenen Keime zutreffend sind, dafs aber aufserdem noch viele andere Bedingungen in gleicher Weise ihre Pathogenität und Infektionstüchtigkeit beeinflussen können.

Dies kann auch nicht wundernehmen, denn:

»In den Krankheitserregern haben wir«, wie Flügge sagt, »genau genommen niemals die einzige ausreichende Ursache der Infektionskrankheiten zu sehen, sondern letztere entwickelt sich erst aus dem Zusammenwirken der Krankheitserreger und eines für dessen Entwicklung günstigen Substrats, eines »empfänglichen« oder für die Erkrankung »disponierten« Organismus (Organs)«.[2])

Und in der Tat wissen wir jetzt, dafs die pathogenen Keime in den für sie empfänglichen Organismus eindringen und in dessen Organen haften bleiben können, ohne irgend welche nachweisbare krankhafte Erscheinungen hervorzurufen, was von

1) a. a. O., S. 16 (meine Kursivschrift).

2) Grundrifs der Hygiene, 1902, S. 589.

Rubner[1]) als »Invasion« im Gegensatz zu der Infektion bezeichnet worden ist. Endlich hat man noch die Erfahrung gemacht, dafs der pathogene und infektionstüchtige Keim, selbst unter den natürlichen Verhältnissen, seine Pathogenität für dieselbe empfängliche Tierspezies einbüfsen oder sogar ganz verlieren kann, und darauf hat man auch künstlich die Pathogenität der Bakterien zu verändern gelernt. »Die Infektionserreger scheinen schon unter natürlichen Verhältnissen«, sagt darüber Kruse »sehr erhebliche Schwankungen ihrer Virulenz zu erleiden...... Unter künstlichen Bedingungen sind bei fast allen Infektionserregern Virulenzschwankungen nachgewiesen worden. Dieselben bewegen sich in zwei Richtungen: es gelingt entweder Abschwächungen oder Verstärkungen der Virulenz zu erzielen.«[2]) Und von den vielen Bedingungen, die die Virulenz der Bakterien beeinflussen oder ganz vernichten können, hat die Wirkung des Magens und seiner Säfte auf die per os eingedrungenen oder eingebrachten Keime sehr früh die Aufmerksamkeit der Forscher geweckt.

So hat C. v. Nägeli schon im Jahre 1877 geschrieben:

»Die Spaltpilze sind gegen Säuren viel empfindlicher als die Sprofs- und Schimmelpilze: sie vermehren sich in den normalen sauren Flüssigkeiten des Magens nicht oder nur spärlich und bleiben auch den normalen chemischen Umsetzungen gegenüber durchaus unwirksam. Anders gestaltet sich das Verhalten in einem Magen, welcher durch krankhafte Affektion einen wenig sauren oder neutralen Inhalt besitzt. Hier finden die Spaltpilze ein günstiges Feld für ihre Vermehrung und Tätigkeit.»[3])

Zu diesen Beobachtungen hat Koch noch neue mitgeteilt und in folgender Weise erklärt:

»Dafs die Infektion vom Darmkanal aus wohl möglich ist, beweisen schon die häufigen Fälle von sekundärer Darmtuberkulose der Phthysiker, welche auf die Infektion durch die ver-

1) Lehrbuch der Hygiene, 1903.

2) Mikroorganismen von Flügge, 1876, S. 299.

3) Die niederen Pilze, 1877, S. 49.

schluckten Sputa zurückgeführt werden müssen. Eigentümlich ist es allerdings, dafs, obwohl anzunehmen ist, dafs ein jeder Phthysiker mehr oder weniger von bazillenhaltigem Sekret seiner Lunge verschluckt, doch nicht bei allen Darmgeschwüre gefunden werden. Ich erkläre mir dies in folgender Weise: erstens erscheint der Darm an und für sich für die langsam wachsenden Tuberkelbazillen einen noch ungünstigeren Angriffspunkt zu bieten als die Lunge. Dann haben aber ferner die Fütterungsversuche mit Milzbrandbazillen und deren Sporen gelehrt, dafs Milzbrandbazillen, welche keine Sporen haben, im Magen zerstört werden, während die Sporen dieser Bazillen den Magen unschädlich zu passieren vermögen.[1])«

Und bei den Untersuchungen über den Milzbrandbazillus, die Koch zusammen mit Gaffky und Löffler anstellte, hat er noch hinzugefügt, dafs:

»Milzbrandsporen im Magen des Hammels nicht zugrunde gehen, im Darm auswachsen, durch die unverletzte Schleimhaut des Darmkanals in die Gewebe eindringen und auf diese Weise eine schnelle tödliche Infektion herbeizuführen vermögen.«[2])

Die nachträglich wiederholt von den verschiedenen Forschern mit den verschiedensten pathogenen Keimen ausgeführten Fütterungsversuche haben gelehrt, dafs fast sämtliche Versuchstiere auf die Fütterung schwach und oft in ganz eigentümlicher Weise reagieren, oder sogar sich ganz refraktär verhalten, während sie gegenüber einer Injektion von denselben Keimen sehr empfänglich sind. Und dafs auch die Kaltblüter in gleicher Weise gegenüber einer Fütterung von pathogenen Bakterien sich verhalten, folgt aus den Versuchen an Fröschen von Lubarsch und Mayr, mit denen die Autoren nachgewiesen haben, dafs:

»Weder die Pilze der menschlichen, noch der Blindschleichentuberkulose vom Magendarmtraktus aus in die inneren Organe eindringen.«[3])

1) Mitteilungen des Kaiserl. Gesundheitsamtese, Bd. II, S. 81.

2) Ebenda, S. 168.

3) Arbeiten aus der pathol. anatom. Abteilung des Kgl. Hygienischen Institutes zu Posen, 1901, S. 147.

Selbstverständlich verhalten sich auch dieser Infektionsart gegenüber die verschiedenen Tiere, je nach der Spezies und nach der Art des Infektionserregers ganz verschieden. Aufserdem können verschiedene beim Infektionsversuch angewandte Kunstgriffe die Infektion unterstützen, wie folgende gesammelten Erfahrungen es beweisen können.

Beim Milzbrand gelingt es, wie C. Fränkel, Sobernheim und Nikolsky[1]) nachgewiesen haben, die empfänglichen Meerschweinchen und Kaninchen durch Verfütterung grofser Sporenmengen zu infizieren, während die hochempfänglichen weifsen Mäuse nach Koch und Korkunoff[2]) durch Fütterung nicht zu infizieren sind. Korkunoff und Crookshank haben aber dabei noch hervorgehoben, dafs bei der Fütterung die Sporen von anderen Stellen (Mund-Rachenschleimhaut, Tonsillen) aufgenommen werden können. Die mit Diphtheriebazillen von Beck und Löffler[3]) an Kaninchen und Meerschweinchen ausgeführten Fütterungsversuche sind negativ ausgefallen.

Eine vom gesunden Darmkanal ausgehende Infektion mit den Bazillen des Malignen Ödems erscheint nach Jensen[4]) als höchst unwahrscheinlich schon aus dem Grunde, dafs man bei den Pflanzenfressern regelmäfsig Ödembazillen im Darminhalte findet.

»Anderseits«, fügt aber Jensen hinzu, »läfst sich die Möglichkeit nicht bestreiten, dafs eine Einwanderung vorkommen kann, wenn der Darm sich vorher im krankhaften Zustande befindet.«[5]) Auf derartige als gelungene Versuche weist der Autor auf die von Menereul hin, in denen die zuerst mit Alkohol und nachher mit Odembazillen gefütterten Kaninchen eingingen.

Bei der Verfütterung des Bac. Botulinus, der nach einer subkutanen Einspritzung von 0,0003—0,001 ccm Kaninchen in

1) Kolle-Wassermanns Handbuch der Path. Mikroorg., Bd. 2, S. 1.
2) Ebenda.
3) Ebenda, S. 754.
4) Ebenda, S. 619.
5) Ebenda, S. 630.

36—48 Std. tötet, sind Dosen von 5—10 ccm per os eingeführt innerhalb 48 Stunden noch nicht sicher tödlich. Oft tritt im letzten Falle zuerst Kachexie und erst nach Wochen der Tod ein. Dagegen verenden die Meerschweinchen nach subkutaner Injektion von 0,00001 bis 0,00005 in 3—4 Tagen und verfallen bei noch kleineren Dosen einer Kachexie, während sie nach dem Genuſs von 1—2 Tropfen Bouillonkultur innerhalb 24—36 Stunden starben. Beim Affen tritt nach subkutaner Injektion oder Darreichung per os von 1—2 Tropfen unter gleichen charakteristischen Symptomen der Tod in 24—36 Stunden ein.

Besonders zahlreich sind die Erfahrungen über die Wirkung der auf verschiedene Tiere verfütterten Pestbazillen. Bei Ratten, die eine überaus groſse Empfänglichkeit für Pestbazillen besitzen, »läſst sich in manchen Fällen«, wie Dieudonné[1]) meint, »eine direkte Infektion vom Magendarmkanal aus konstatieren.« Von den Mäusen sollen sich verschiedene Rassen der Fütterung gegenüber verschieden verhalten. Während bei den Versuchen von Kolle von den gefütterten weiſsen Mäusen nur 50 % infiziert wurden, starben bei den Versuchen von Kolle und Overbeck alle grauen Hausmäuse innerhalb von 3 Tagen nach der Verfütterung. Kolle hat aber dabei berichtet, daſs von 80 der Fütterungspest erlegenen Mäusen nur bei zweien Herde im Darm auftraten, ohne daſs eine Veränderung der submaxillaren Drüsen im Sinne eines primären Bubo stattgefunden hätte. Dasselbe hat sich auch bei den Versuchen von Kolle an Meerschweinchen wiederholt: einige starben nach der Verfütterung und zeigten submaxillare Bubonen. Die Kaninchen waren noch weniger empfindlich, und bei Affen »gelang die Infektion per os sicher«. Hühner reagierten auch auf Verfütterung von groſsen Mengen virulenter Pestbazillen gar nicht; bei Katzen traten submaxillare Bubonen auf, dabei blieb die Krankheit lokal oder ging in eine allgemeine über.

Und besonders auffallend ist es, daſs die Fütterungsversuche mit Bakterien, für die bei den natürlichen Verhältnissen der

1) Kolle Wassermanns Handb. d. Path. Mikroorg., Bd. 2, S. 475—502.

Magendarmtraktus eine Prädilektionsstelle bildet, am häufigsten negativ ausfallen.

Der gewöhnliche Darmbewohner — das Bakterium Coli commune — hat sich bei Infektionsversuchen an Tieren als sehr pathogen erwiesen, und die an Tieren nach der Infektion gesehenen allgemeinen Krankheitserscheinungen sind, wie Emmerlich[1]) zuerst hervorhob und allenthalben bestätigt wurde, jenen eines schweren Magendarmkatarrhs sehr ähnlich. Aber eine Erkrankung durch Aufnahme der Kulturen per os wurde nach Emmerlich und Korkunoff auch dann nicht gesehen, wenn der Magensaft vorher neutralisiert worden war. Dasselbe wiederholt sich auch bei der Dysenterie. Wenn die kleineren Versuchstiere gegen jede Art der Inokulation von Dysenteriebazillen aufserordentlich empfindlich sind, so dafs $^1/_{20}$ Öse (Öse = 2 mg) lebender Reinkulturen, einem Kaninchen intravenös injiziert, bei dem Tier Durchfälle und Lähmungen hervorruft, so versagt das Experiment bei der Einführung der Bazillen per os.[2])

Während beim Menschen der Typhus »fast ausnahmslos durch Verschlucken der Bazillen erworben wird[3]), so kennen wir« nach Neufeld »kein Tier«, bei welchem der Typhus ähnlich wie beim Menschen eine spezifische wohl charakterisierte Erkrankung auszulösen imstande wäre.«[4]) A. Fränkel gelang es aber, Meerschweinchen krank zu machen und zu töten durch Einführung der Kulturen in das Duodenum.[5])

Nikati und Rietsch[6]) ist es auch durch das Einführen von Cholerabazillen in das Duodenum gelungen, bei Tieren eine tödlich verlaufende Infektion hervorzurufen. Koch[7]) konnte dagegen Meerschweinchen infizieren, indem er die Salzsäure des Magens durch 5 proz. Sodalösung neutralisierte und nachher

---

1) Kolle-Wassermanns Handbuch d. path. Mikroorg., Bd. II, S. 334.

2) Ebenda, S. 309.

3) Mehrings Lehrbuch der inneren Medizin, 1903.

4) Kolb-Wassermanns Handbuch der pathog. Mikroorg., Bd. II, S. 229.

5) Ebenda.

6) Ebenda, Bd. 3.

7) Ebenda.

mit der Cholera-Reinkultur Opiumtinktur den Tieren einverleibte.

»Man darf allerdings nicht aufser acht lassen«, bemerkt bei der Erwähnung dieser Versuche Kolle[1]), »dafs es sich bei den Versuchen, die Meerschweinchen auf diese Weise cholerakrank zu machen, immerhin um einen ziemlich rohen Eingriff handelt, durch den die Tiere unter allen Umständen erheblich geschwächt werden, und dafs der Infektionsmodus ein ziemlich intensiver ist, so intensiv, dafs bei gleicher Versuchsordnung wohl auch andere Mikroorganismen ähnliche Krankheitsprozesse hervorrufen können.« Was auch experimentell bestätigt wurde.

Wenn wir jetzt alle hier geschilderten Ergebnisse der Fütterungsversuche an den verschiedenen Tieren mit den verschiedensten Mikroorganismen zusammenfassen, so sehen wir, dafs im allgemeinen sämtliche Tiere gegenüber einer Fütterungsinfektion mit den pathogenen Mikroorganismen bedeutend widerstandsfähiger, als gegenüber jeder anderen Infektionsart sich verhalten, und dabei sind die verschiedenen Tierspezies in verschiedenem Grade refraktär.

Aber aufserdem haben wir gesehen, dafs viele positiv ausgefallene Versuche nicht ganz einwandfrei sind, da es nicht ausgeschlossen und sogar sehr wahrscheinlich ist, dafs die Infektion von der Mund-Rachenschleimhaut oder den Tonsillen ausgegangen ist. In einigen Fällen dagegen, wie bei den Versuchen mit dem Bac. Botulinus, traten trotz der kolossalen Dosis von 5—10 ccm keine typischen Erscheinungen, sondern eine Kachexie auf.

Alle diese auffallenden Tatsachen, wie auch die von Rubner[2]) festgestellten, dafs die Bakterien im Darm, wechselnd nach der Kost und der Art der Zubereitung der Speisen, sehr reichlich sind, und 1 mg Kot bei gemischter Kost 1,2 Millionen Keime enthält, sprechen mit grofser Wahrscheinlichkeit dafür, dafs nur der Magen durch seine Sekrete die Pathogenität der Keime beeinflufst oder vernichtet.

1) Kolle-Wassermanns Handbuch der pathog. Mikroorg., S. 26.
2) Lehrbuch der Hygiene, 1903.

Dafs es in der Tat so ist, und dafs aufserdem noch unter verschiedenen Bedingungen diese Wirkung des Magensaftes auf die Virulenz der Bakterien stark modifiziert werden oder ganz ausbleiben kann, dafür werde ich in folgendem an der Hand der Experimente mit dem Tetanusbazillus Beweise zu liefern versuchen.

Experimenteller Teil.

Wie allgemein bekannt, ist der Tetanusbazillus in unserer Umgebung derart verbreitet, dafs von seiner Ubiquität gesprochen wird.

So hat ihn schon Nikolaier[1]), sein Entdecker, bei seinen Untersuchungen von verschiedenen Erdproben einmal in 12 von 18, und das zweite Mal in 81 von 172 Proben gefunden.

Bossano[2]) hat diese Versuche nachgeprüft und fand in den von ihm untersuchten 38 Erdproben, die allen fünf Erdteilen angehörten, 26 mal den Tetanusbazillus.

Bisserié[2]) fand den Staub von viel benutzten Strafsen, Reitwegen, den Sand vom Boden einer Reitschule stark infektiös.

Nikolaier, Sanchez-Toledo, Reclus u. a. haben nachgewiesen, dafs gedüngtes Acker- und Gartenland, Rieselfelder, Höfe und Strafsen besonders häufig und zwar infektiöse Tetanusbazillen beherbergen. Vielfach wurden sie auch innerhalb der Wohnungen nachgewiesen.

Lortet[2]) fand die Tetanusbazillen im Schlamm des Genfer Sees und des Toten Meeres, und nach Ringeling durchqueren die Tetanusbazillen im Bielschwasser der Schiffe die Weltmeere, »wobei sie es denn auch gar nicht selten zur Bestätigung ihrer pathogenen Eigenschaften kommen lassen.«[2])

Sanchez-Toledo und Veillon[2]) haben bei ihren Untersuchungen des Kotes der Tiere in 50 % der untersuchten Fälle den Bazillus nachgewiesen, und Pizzini konnte in 5 % der

---

1) Kolle-Wassermanns Handbuch der pathog. Mikroorg., Bd. 2, S. 567.

2) a. a. O., S. 586.

Fälle auch mit menschlichem Kot Tetanus erzeugen. Wie die Tetanusbazillen in den Darm der Tiere eindringen, darüber haben die Untersuchungen von Rietsch eine Aufklärung gegeben, indem sie zeigten, dafs die Tetanussporen auf Gras und Heu und anderer Nahrung oft haften bleiben. Es lag nach dieser Erfahrung der Gedanke nahe, dafs auch beim Menschen auf diesem Wege, zusammen mit der Nahrung, die Bazillen in den Magen eingeführt werden, und die von mir angestellten später folgenden Versuche haben es auch bestätigt.

Auf Veranlassung meines hochverehrten Lehrers, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Rubner, dem ich meinen ergebensten Dank für das stete Interesse an den Untersuchungen ausspreche, habe ich eine Untersuchung der Erdbeeren und Kirschen auf Tetanusbazillen unternommen.

Es wurde 1 Pfund ganz frischer Erdbeeren[1]) in 200 ccm steriler peptonisierter Rindfleischbouillon abgewaschen. Um die Berührung der Hände mit steriler Bouillon zu vermeiden, habe ich jede einzelne Erdbeere am Stiel angefafst und wiederholt in die Bouillon eingetaucht. Nachdem alle Erdbeeren in dieser Weise abgewaschen waren, hat sich die Bouillon getrübt, und der Boden des Glasbechers war ganz mit Sand bedeckt.

Die mikroskopische Untersuchung der Bouillon im hängenden Tropfen hat ergeben: zahlreiche Kokken von verschiedener Gröfse, noch mehr intensiv bewegliche Stäbchen und einzelne endständige Sporen. Die Sporen waren auch durch die Sporenfärbung nachweisbar.

Nach kräftigem Umschütteln wurden mit verschiedenen Mengen dieser Bouillon (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 und 1 ccm) je 2 Mäuse subkutan oberhalb der Schwanzwurzel geimpft.

Fünf von den geimpften Mäusen sind zugrunde gegangen und zwar: eine, der 1 ccm injiziert wurde, ist schon nach 24 Stunden tot aufgefunden worden; die zweite nach 36 Stunden; von den mit 0,8 ccm geimpften ist eine nach 2 Tagen und die zweite nach 8 Tagen zugrunde gegangen; endlich ist noch eine

1) Die Erdbeeren wurden mit Absicht, um sie frisch und nicht gewaschen zu bekommen, vom Wagen beim Strafsenhändler gekauft.

von den mit 0,6 ccm geeimpften nach 13 Tagen eingegangen. Aber keine von diesen zugrunde gegangenen Mäusen hat das typische Bild der Robbenstellung dargeboten.

Die negativen Ergebnisse des Versuches trotz des Vorhandenseins von endständigen Sporen haben mich veranlafst, ihn mit einigen Varianten zu wiederholen. Es wurde wieder 1 Pfund Erdbeeren verbraucht, aber zum abwaschen eine 2 proz. Zuckerbouillen angewendet. Diesmal hat die mikroskopische Untersuchung etwas mehr endständige Sporen in der Bouillon ergeben.

Die ganze Bouillon wurde nach kräftigem Umschütteln in vier gleiche Teile geteilt, jeder verschiedenartig für sich weiter behandelt und auf je 8 Mäuse subkutan oberhalb der Schwanzwurzel verimpft.

Ein Teil wurde ohne jede weitere Behandlung zur Injektion benutzt, der zweite nachdem er eine halbe Stunde lang bei 80° gewärmt worden war. Die übrigen zwei Teile, von denen einer vorher auch eine halbe Stunde bei 80° gewärmt war, wurden drei Tage im Brutschrank bei 37° gehalten und nachher auf Mäuse verimpft. Vor der Füllung der Spritze wurde die Bouillon jedesmal, um eine gleichmäfsige Verteilung der Keime zu erzielen, kräftig umgeschüttelt.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in folgender Tabelle zusammengestellt. (Tabelle I.)

Wie aus der Tabelle zu ersehen, sind von den 32 geimpften Mäusen 17 eingegangen, und von diesen zeigten nur 7 eine für den Tetanus typische Robbenstellung.

Zwei von den eingegangenen Mäusen, Nr. 28 und 27, sind einer Kachexie verfallen: sie machten einen elenden Eindruck, hatten struppiges Haar, waren abgemagert und sahen vor dem Tod wie mumifiziert aus. Wie zu erwarten war, sind mit typischen Tetanuserscheinungen nur diejenigen Mäuse, die mit der auf 80° erwärmten, bzw. auf 80° erwärmten und drei Tage im Thermostaten gehaltenen Bouillon infiziert wurden, eingegangen. Es ist jedoch zu bemerken, dafs beinahe bei sämtlichen infizierten Mäusen nach 2—3 Tagen eine deutliche Streckung des Schwanzes

(Fortsetzung des Textes auf S. 13.)

Tabelle I.

Laufende Nr.	Art des Injektions-materials	Menge in ccm	Einge-gangen nach Stdn.	Einge-gangen nach Tagen	Bemerkungen
1	Bouillon direkt nach dem Abwaschen	0,2	—	—	Bleibt am Leben.
2	»	0,2	—	—	»
3	»	0,4	—	—	»
4	»	0,4	—	—	»
5	»	0,6	—	3	Keine Robbenstellg.
6	»	0,6	—	—	Bleibt am Leben.
7	»	0,8	36	—	Keine Robbenstellg.
8	»	0,8	—	$4^1/_2$	»
9	Bouillon nach dem Abwaschen $^1/_2$ Stunde bei 80° erwärmt	0,2	—	—	Bleibt am Leben.
10	»	0,2	—	—	»
11	»	0,4	—	—	»
12	»	0,4	—	—	»
13	»	0,6	—	—	»
14	»	0,6	—	21	Robbenstellung
15	»	0,8	—	7	»
16	»	0,8	—	15	»
17	Bouillon direkt nach dem Abwaschen auf 3 Tage in den Thermostat gebracht	0,2	—	—	Bleibt am Leben.
18	»	0,2	—	—	»
19	»	0,4	—	19	Keine Robbenstellg.
20	»	0,4	—	—	Bleibt am Leben.
21	»	0,6	—	6	Keine Robbenstellg.
22	»	0,6	—	11	»
23	»	0,8	24	—	»
24	»	0,8	—	3	»
25 u. 26	Bouillon nach dem Abwaschen $^1/_2$ Stunde bei 80° u. 3 Tage im Thermostat. gehalten	0,2	—	—	Bleiben am Leben.
27	»	0,4	—	26	Sehr stark abgemag. u. Robbenstellung.
28	»	0,4	—	45	auch
29	»	0,6	—	7	Robbenstellung.
30	»	0,6	—	3	»
31	»	0,8	49	—	»
32	»	0,8	—	$2^1/_2$	»

und eine Parese der Hinterbeine zu konstatieren war. Aber diese Erscheinungen sind bei den übrigen Mäusen nach einigen Tagen wieder ganz verschwunden.

Es wurden in gleicher Weise in demselben Jahre 1905 noch drei Erdbeerproben geprüft, von denen zwei positiv ausgefallen sind, und im Sommer dieses Jahres wurden noch vier Erdbeerproben und fünf Kirschenproben nachgeprüft. Von den vier Erdbeerproben haben drei bei Mäusen Tetanus erzeugt, von den Kirschenproben nur eine. Wenn man nach Feststellung dieser Tatsachen bedenkt, dafs die Mäuse im Vergleich mit dem Pferde eine verhältnismäfsig geringe Empfindlichkeit für den Tetanus besitzen, da, wie festgestellt worden ist, die tödliche Minimaldosis für 1 g Maus 12 mal so grofs ist wie diejenige für 1 g Pferd; bedenkt man weiter, dafs der Mensch, der in seiner Empfänglichkeit gegenüber dem Tetanusgifte »das Pferd«, wie v. Lingelsheim[1]) betont, »vielleicht noch übertrifft«, sehr viel Erd- und verschiedene andere Beeren und Obst, Gemüse und mehrere andere Nahrungsmittel, die auf der Erde wachsen oder mit ihr in Berührung kommen, fortwährend verzehrt, so zwingt sich die Frage auf:

Wird die Pathogenität der vom Menschen mit der Nahrung fortwährend verschluckten und von Pizzini[2]) auch im Kot nachgewiesenen Tetanusbazillen vernichtet? Und wodurch wird sie vernichtet? Oder werden die Bazillen bei der Passage des Magendarmtraktus nur in der Art beeinflufst, dafs sie unter bestimmten Bedingungen irgendwelche, wenn auch nicht typische, Erscheinungen hervorrufen können? Diese Frage ist, wie mir scheint, um so mehr berechtigt, als auch bei den verschiedenen anderen Bakterien nach der Passage des Magendarmtraktus derartige Veränderungen ihrer Eigenschaften, wie es in der Einleitung auseinandergesetzt wurde, zutage treten.

Schon vor vielen Jahren wurden von einigen Forschern Experimente an Meerschweinchen und Kaninchen ausgeführt, um festzustellen, ob die Tetanusbazillen und ihre Gifte auch vom

1) Kolle-Wassermanns Handbuch d. pathog. Mikroorg., Bd. 4, S. 983.
2) Ebenda, Bd. 2, S. 567.

Magendarmtraktus aus eine typische Erkrankung erzeugen, und was mit ihnen nach der Passage des Darmtraktus geschehe. Und alle Forscher, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, sind übereinstimmend zu dem Schlufs gekommen, dafs weder die Tetanusbazillen noch ihre Gifte eine typische Tetanuserkrankung zu erzeugen imstande sind, aber über das Schicksal derselben nach ihrer Passage durch den Darmtraktus haben die verschiedenen Forscher ganz verschiedene Ansichten gewonnen.

Somari[1]) war der erste, der solche Versuche ausführte, und ist auf Grund seiner Experimente zu dem Schlusse gelangt, dafs der Tetanusbazillus den Verdauungskanal gesunder, pflanzenfressender und fleischfressender Tiere passiert, ohne den Tod oder auch nur besondere krankhafte Erscheinungen zu erzeugen, und dafs die Verdauungssäfte dieser Tiere den Tetanusbazillus weder zu töten noch zu verändern vermögen.

Vincenzi[2]) studierte das Schicksal des Tetanusgiftes, welches vermittelst der Schlundsonde in den Magen des Meerschweinchens und Kaninchens gebracht worden war. Während $^1/_5$ Tropfen des Giftes genügte, um ein Meerschweinchen bei subkutaner Injektion in zwei Tagen zu töten, so waren 5—10 ccm, in den Magen eingebracht, für das Meerschweinchen unschädlich, und da das Blut und der Urin derselben »dauernd von Tetanus erzeugender Fähigkeit frei waren«, so schliefst der Verfasser daraus, dafs das Tetanusgift durch die Schleimhaut des Verdauungskanals, speziell des Dünndarms, neutralisiert wird.

Fermi und Celli[3]) haben aus ihren Versuchen gefolgert, dafs der Magensaft das Tetanusgift blofs durch die Einwirkung der Salzsäure zerstört, dafs das Pepsin hingegen, wie auch der Speichel, der Pankreassaft, der Darmsaft und gewöhnliches Trypsinpräparat indifferent oder ohne deutliche schädliche Einwirkung sich zeigten. Auch in Urin, Galle und Fett bleibt das Tetanus-

1) Zentralbl. f. Bakter., Bd. VI, S. 139.
2) Deutsche med. Wochenschr., 1893, S. 778.
3) Zentralbl. f. Bakter., Bd. XII, S. 617.

gift lange unverändert. Auffallenderweise fügen die Autoren in derselben Arbeit noch hinzu, dafs auch nach Injektion von grofsen Dosen (20 ccm) das Gift nach nur einer Stunde vollständig aus dem Intestinum verschwindet, und die Zersetzung desselben erfolgt durch die Tätigkeit der Intestinalwände selbst, und die Zerstörung des Giftes findet auch in dem vom Tierkörper getrennten Darm statt.

»Dies führt uns«, sagen die Verfasser, »zu dem Schlusse, dafs die Zersetzung derselben nicht blofs während der Resorption und durch die lebenden und funktionierenden Zellen der Darmwände erfolgt, sondern auch durch dieselben, wenn sie bereits abgestorben sind.« »Übrigens«, bemerken dabei die Autoren selbst, »fällt es in letzterem Falle ziemlich schwer, zu begreifen, wie eine so grofse Giftmenge, die in einen unbeweglichen und mit Fäzes gefüllten Darm injiziert wird, in so kurzer Zeit mit den Darmwänden vollständig in Kontakt kommen kann, um zerstört zu werden«.[1]) Demgegenüber hat Fermi zwei Jahre später, gelegentlich einer zweiten Untersuchung, die er zusammen mit Pernossi ausgeführt hat, sich folgendermafsen geäufsert:

»Die zerstörende Macht über das Tetanusgift, welche dem lebenden Darme eigentümlich und fast Null ist im Darme post mortem, ist zuzuschreiben weder den Mikroben, noch den Fermenten, noch der Galle, noch dem Darminhalte, noch den Drüsen Brunners oder jenen Lieberkühns, sondern dem Epithel, welches den wirksamen Teil des Absorptionsapparates ausmacht.«[2])

Dagegen ist Ransom auf Grund seiner Untersuchung zu diesem Schlusse gekommen: »Das Gift wird weder vom Magen noch vom Darm absorbiert, infolgedessen erscheint weder Gift noch Antitoxin im Blute, und es wird nicht zerstört, sondern fliefst unverändert durch den ganzen Kanal und wird per anum ausgeschieden.«[3])

---

1) a. a. O., S. 618.

2) Zentralbl. f. Bakter., Bd. XV, S. 303.

3) Deutsche med. Wochenschr., 1898, Nr. 8.

Diese allen bis dahin gemachten Erfahrungen widersprechenden Schlufsfolgerungen von Ransom haben Vincenzi[1]) sogar veranlafst, öffentlich seinen Zweifel an der Richtigkeit der Experimente von Ransom zu verkündigen, worauf Ransom[2]) erwiderte, dafs er 60—70 fach gröfsere Giftdosen angewandt hätte, wodurch das Auffinden des Giftes bedeutend erleichtert worden wäre.

Endlich ist noch die Arbeit von Thalmann zu berücksichtigen, der zahlreiche Fütterungsversuche mit Tetanusbazillen an Meerschweinchen, bei denen vorher der Darmkanal durch verschiedene energische chemische Reizmittel oder »sehr spitze Glassplitter« lädiert war, ausgeführt hat und auf Grund seiner Experimente zu dem Schlufs gekommen ist, dafs »auch beim Bestehen sehr schwerer Darmschädigungen die Anwesenheit von Tetanusbazillen und Tetanusgift im Darmtraktus des Meerschweinchens von der Speiseröhre nach abwärts für den Träger ohne Bedeutung ist.«[3])

Alle diese hier geschilderten Versuche haben, wie wir sehen, angeblich den Beweis geliefert, dafs nach einer Einführung selbst grofser Mengen von Tetanusbazillen oder Tetanusgift per os die Tiere keine typischen Krankheitserscheinungen, wie wir sie bei den an Tetanus erkrankten Tieren zu finden gewohnt sind, zeigen. Aber aus keinem von den geschilderten Versuchen ist zu entnehmen, ob nicht irgendwelche anderen Erscheinungen bei den gefütterten Tieren zum Vorschein kamen, und die Angaben über das Schicksal der per os einverleibten Bakterien bzw. Gifte nach der Passage des Verdauungstraktus widersprechen einander. Das letzte kann auch nicht befremden, denn die Versuche wurden von den Autoren in der Weise angestellt, dafs man aus ihnen keine einheitlichen Ergebnisse erhalten konnte. Dafs es in der Tat so ist, das beweisen die in ganz gleicher Weise ausgeführten, aber ihren Ergebnissen nach einander widersprechenden Versuche von Vincenzi und Ransom.

1) Deutsche med. Wochenschr., 1898, Nr. 25.
2) Ebenda, S. 403.
3) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 33, S. 400.

Vincenzi[1]) hat Meerschweinchen durch die Schlundsonde je 5—10 ccm Tetanustoxin in den Magen eingeführt und nach 5 Stunden deren Magen, Dünn- und Dickdarm mit ihrem Inhalte, wie auch die vor der Tötung erhaltenen Exkrete, auf Mäuse verimpft und bekam ein negatives Resultat.

Ransom[2]) hat in gleicher Weise Meerschweinchen durch die Schlundsonde je 5—10 ccm Tetanustoxin in den Magen eingeführt und in ganz gleicher Weise nach 4—5 Stunden deren Magen, Dünn- und Dickdarm mit ihrem Inhalte, wie auch die vor der Tötung des Tieres erhaltenen Exkrete, auf Mäuse verimpft und bekam ein positives Resultat.

Da aber die Zusammensetzung des Kotes (seiner organischen und anorganischen Bestandteile, seiner Bakterien und deren Stoffwechselprodukte) nicht etwas Bestimmtes und Konstantes, sondern etwas sehr Wechselndes ist, so müfsten auch die mit diesem ausgeführten Impfversuche verschieden ausfallen. Und es ist doch wohl bei derartigen Versuchen sehr schwer zu entscheiden, ob nicht das Fehlen von einigen Erscheinungen bei den negativ ausgefallenen Versuchen auf die Beeinflussung der anderweitigen Bestandteile und Bakterien des Kotes und deren Stoffwechselprodukte zurückzuführen ist; ebenso ist es anderseits möglich, dafs bei den angeblich positiv ausgefallenen Experimenten die Erscheinungen durch dieselben Momente vorgetäuscht waren.

In den oben (Tab. I) geschilderten Versuchen sahen wir, dafs die tetanischen Erscheinungen bei den geimpften Mäusen fehlten, obwohl in der Bouillon zahlreiche Tetanussporen nachgewiesen wurden; diese traten aber zum Vorschein, nachdem die Bouillon bei 80° erwärmt wurde. Die weiteren Versuche werden auch den Beweis liefern, dafs mit normalem Kot geimpfte Tiere tetanusähnliche Erscheinungen vortäuschen, die in einigen Fällen nach 5—10 Tagen verschwinden, in den anderen zum Exitus des Tieres führen. Diese Experimente werden auch nachweisen, dafs der Menge des Virus bei den Fütterungs-

1) Deutsche med. Wochenschr., Nr. 25.

2) Ebenda, Nr. 8.

versuchen keine wichtige Rolle zuzuschreiben ist. Was die anderweitigen Versuche von Ransom anlangt, so sind in diesen, meines Erachtens, auch andere Fehlerquellen nicht ausgeschlossen.

Der Autor legt sehr viel Wert darauf, dafs die verschiedenen Teile des Verdauungstraktus mit ihrem Inhalte auf Mäuse verimpft verschieden intensiv gewirkt haben: »Magen- — leichter Tetanus, Dünndarm — mäfsiger Tetanus und Dickdarm — Tetanustod nach 3 Tagen (Versuch 2)«.[1])

Dafs diese verschiedene Wirkung der verschiedenen Teile des Verdauungstraktus die vorausgegangenen Erwägungen nicht widerlegt, sondern sogar bestätigt, das folgt aus der Tatsache, dafs in dem stark sauren Mageninhalt des Meerschweinchens keine oder nur sehr wenige wirksame Keime sind, ebensowenig Keime sind im teilweise noch sauren Inhalt der oberen Dünndarmteile vorhanden, und nur im Dickdarm sind sie sehr zahlreich. Und aufserdem, ob der gröfste Teil des in den Magen des Meerschweinchens eingeführten Giftes, angenommen, dafs es unzerstört und unresorbiert bleibt, schon nach 4 Stunden im Dickdarm erscheint, mufs doch fraglich erscheinen, nachdem Munk festgestellt hat: »Bei den kleinen Herbivoren, Kaninchen und Meerschweinchen, sind die Magenbewegungen so träge, dafs der Inhalt sehr lange Zeit im Magen stagniert«.[2]) Noch unwahrscheinlicher ist es aber, dafs das verfütterte Gift schon nach 2 Stunden mit dem Kot ausgeschieden sein soll, wie aus folgender Mitteilung Ransoms in demselben Versuch folgt.

»Zwei Stunden nach der Vergiftung hatte das Meerschweinchen 12—15 ccm Exkremente entleert. Davon bekam eine Maus 0,5 ccm unverdünnt, sie starb innerhalb 25 Stunden an allgemeinem Tetanus. Die Exkremente stammen zum gröfsten Teil aus dem Darm, zum kleineren Teil aus der Harnblase.«

Aus diesen Ergebnissen wäre doch, meines Erachtens, mit gröfserer Wahrscheinlichkeit der Schlufs zu ziehen, dafs die hervorgetretenen Erscheinungen bei den Mäusen auf die Wirkung

1) Vom Meerschweinchen, welches nach 4 Stunden nach der Fütterung getötet wurde.

2) a. a. O., S. 111

des Kotes oder Urins selbst oder beider zusammen zurückzuführen sind.

Dafs auch der normale Urin tetanusähnliche Erscheinungen beim Versuchstier erzeugen könne, das haben v. Leyden und Blumenthal[1]) hervorgehoben, indem sie ausdrücklich betont haben: »Man lasse sich ja nicht täuschen durch klonisch-tonische Krämpfe, welche man gelegentlich mit Urin von Menschen, namentlich aber von Pflanzenfressern hervorrufen kann. Diese sind durch den Salzgehalt des Urins bedingt.« Auch die von mir ausgeführten und weiter zu schildernden Versuche haben es bestätigt.

Aber davon abgesehen, ist es doch möglich, dafs nach 2 Stunden das resorbierte Gift mit dem Harn ausgeschieden war, und es mufste zuerst entschieden werden, ob die Wirkung im Ransomschen Falle auf Kot oder Urin zurückzuführen sei. Dafs auch diese Möglichkeit nicht ganz ausgeschlossen ist, haben Bruschetini, Charrin und Kartullis[2]) bewiesen, dafür sprechen mit grofser Wahrscheinlichkeit, wie später bewiesen werden wird, einige von mir angestellten Versuche und der Versuch 3 von Ransom selbst.

In diesem Versuche wurden einem 500 g schweren Meerschweinchen 10 ccm 5 proz. Tetanustoxinlösung per os eingeführt. »Nach 2 Stunden hatte das Tier«, wie Ransom berichtet, »ca. 15 ccm Flüssigkeit mit einigen Stückchen festen Kotes entleert. Von der Flüssigkeit, welche mit Kotbestandteilen imprägniert war, bekam eine Maus $^1/_{20}$ ccm: 24 Stunden Tetanustod; eine Maus $^1/_{2000}$ ccm: 3 Tage Tetanustod; 1 Maus $^1/_{50000}$ ccm: in 5 Tagen Tetanustod. Der Rest der entleerten Flüssigkeit wird mit dem entleerten festen Kot verrieben, davon bekam eine Maus $^1/_{10000}$ ccm: in 36 Stunden Tetanustod. Der Behälter wird jetzt gereinigt. Es sammelten sich in den nächsten 12 Stunden ca. 40 ccm Flüfsigkeit und mehrere Stückchen Kot an. Von dem verriebenen Kot und Flüssigkeit bekam eine Maus $^1/_{20}$ ccm: sie macht

1) Nothnagels spezielle Pathologie und Therapie, 1900, S. 11.

2) Ebenda.

einen ziemlich starken Tetanus durch und war am 8. Tage(!) noch sehr krank«.[1])

Aus diesem Versuche, in dem $^1/_{50000}$ ccm der Exkrete in 5 Tagen den Tod der Maus hervorgerufen haben, geht mit grofser Wahrscheinlichkeit hervor, dafs in diesen Toxin vorhanden war. Und wenn wir mit dem Autor annehmen, dafs das Toxin weder zerstört, noch resorbiert und mit dem Kot per anum ausgeschieden wird, so drängt sich unwillkürlich die Frage auf: warum haben die im Laufe der weiteren Stunden (nach den ersten 2 Stunden) ausgeschiedenen Kotmassen in einer Menge von $^1/_{20}$ ccm, also in 2500mal gröfserer, in 8 Tagen die Maus noch nicht getötet, wenn aus dem vorher geschilderten Versuch 2 nach Ransom folgte, dafs vier Stunden nach der Fütterung die Hauptmenge des Giftes im Dickdarm vorhanden sein sollte?

Die beiden von Ransom geschilderten Ergebnisse sind nach seiner Deutung vollständig unvereinbar. Dagegen werden beide Versuche leicht verständlich und erklärlich, wenn man annimmt, dafs das Gift mit dem Harn ausgeschieden war.

Was die Versuche von Thalmann betrifft, so scheint mir bei deren Schilderung sehr auffallend zu sein, dafs die Meerschweinchen, trotzdem sie mit Ol Ricini und Natr. Carbonicum-Lösung, oder mit Ol. Crotonis und Natr. Carbon., oder Extractum Colocynthid. und Natr. Carbon., oder mit Pulv. Sennae und Natr. Carbon., oder mit »sehr spitzen« Glassplittern und Tinct. Opii nach einer 1 tägigen Hungerperiode vor der Fütterung mit Tetanusbazillen vorbehandelt wurden, eines »dauernden Wohlbefindens«[2]) sich erfreuen und überhaupt keine krankhaften Erscheinungen gezeigt haben sollten.

Wie in der Einleitung erwähnt wurde, hat Kolle die Vorbehandlung der Meerschweinchen durch Verfütterung von Sodalösung und Tinct. Opii als einen ziemlich rohen Angriff bezeichnet, durch den die Tiere unter allen Umständen erheblich geschwächt werden, und meint, dafs bei gleicher Versuchsord-

1) a. a. O., S. 118.
2) a. a. O., S. 396—399 (meine Kursivschrift).

nung wohl auch andere Mikroorganismen der Cholera ähnliche Krankheitsprozesse hervorrufen können. Aus allen zuletzt geschilderten Erwägungen heraus hielt ich es für angezeigt, die Frage nachzuprüfen.

Die Versuche wurden mit Agar- und Gelatinetetanuskulturen und mit 5 proz. Toxinlösung zum Vergleich ausgeführt.

Bei Prüfung der Virulenz des im Laboratorium des Hygienischen Institutes zurzeit vorhandenen Tetanusstammes stellte sich heraus, dafs eine Platindrahtspitze der auf Agar gezüchteten Kultur eine Maus bei subkutaner Einverleibung in 3 Tagen tötete, während eine in gleicher Weise mit Gelatinekultur geimpfte Maus erst nach $6\frac{1}{2}$ Tagen einging. Das zu den Versuchen benutzte Toxin war etwas älteren Datums, darum war es notwendig, an verschiedenen Tieren Vorprüfungen anzustellen. Es wurde deshalb eine Maus, ein Meerschweinchen und Kaninchen mit dem Toxin subkutan geimpft. Die Maus wurde mit einer Drahtspitze von Tetanustoxin geimpft und ging erst nach 3 Tagen ein. Das Meerschweinchen und Kaninchen wurden mit je 5 ccm einer 5 proz. Toxinlösung subkutan geimpft (Tabelle II).

Die Ergebnisse dieser Impfung haben die Vermutung, dafs das Gift schwach wirksam sein werde, bestätigt, aber aufserdem hat das Kaninchen sehr merkwürdige Erscheinungen gezeigt, die es für sehr zweckmäfsig erscheinen liefsen, noch weitere Versuche mit diesem Toxin anzustellen.

Wie die Tabelle II zeigt, hat die kolossale Menge von 5 ccm der 5 proz. Toxinlösung nach 24 Stunden beim Meerschweinchen 2 nur eine Lähmung des linken Hinterbeins hervorgerufen. Aber nach 48 Stunden waren schon alle Extremitäten gelähmt, und es war schon im Eingehen.

Das Tier wurde chloroformiert und aus dem Herzen frisch entnommenes Blut, sowie Urin, Galle, Rückenmark, Leber und Milz auf Mäuse verimpft.

Blut, Urin und Galle wurden direkt, die Organteile mit steriler physiologischer Kochsalzlösung fein verrieben auf je zwei Mäuse verimpft. Von den elf geimpften Mäusen ist nur

(Fortsetzung des Textes auf S. 125.)

Tabelle II.

Lfd. Nr.	Tierart	Gewicht in g	Art der Impfung	Tag der Impfung	Verlauf	Tag des Todes	Bemerkungen
1	Maus	13	Eine Drahtspitze reinen Toxins I subkutan, links	16. X.	17. X., linke hint. Extremität gestreckt, abends beide hintere Extremitäten.	19. X.	Robbenstellung.
2	Meerschw.	410	5 ccm 5 proz. Toxinlösung I subkutan rchts. geimpft	19. X.	20. X., 370 g, r. h. Extr. 21. X., 335 g, hint. Extr. gestr., vord. angezogen. Dyspnoe. Durch Chlorof. getötet.	21. X.	
3	Maus	15	0,4 ccm Blut v. Meerschw. Nr. 2.	21. X.	munter	27. XI.	stark abgemagert
4	»	14	»	»	»	—	Bleibt a. Leb.
5	»	16	0,5 ccm Urin v. Meerschw. Nr. 2.	»	»	—	»
6	»	13	0,8 ccm Urin v. Meerschw. Nr. 2.	»	Die ersten Tage sieht krank aus und ist sehr empfindlich. Erholt sich	—	»
7	»	15	0,5 ccm Galle v. Meerschw. Nr. 2.	»	munter	—	»
8	»	16	0,2 ccm Rückenmark v. Meerschw. Nr. 2.	»	»	2. XI.	stark abgemagert
9	»	14	0,5 ccm Rückenmark v. Meerschw. Nr. 2.	»	22. X. linke hint. Extremität gestreckt	24. X.	Robbenstellung
10	»	13	0,5 ccm Leberemulsion v. Meerschw. Nr. 2.	»	munter	—	Bleibt a. Leb.
11	»	15	0,5 ccm Leberemulsion v. Meerschw. Nr. 2.	»	»	—	»
12	»	17	0,5 ccm Milzemulsion v. Meerschw. Nr. 2.	»	»	—	»
13	»	14	»	»	»	—	»

Fortsetzung der Tabelle II.

Lfd Nr.	Tierart	Gewicht in g	Art der Impfung	Tag der Impfung	Verlauf	Tag des Todes	Bemerkungen
14	Kaninchen	1470	5 ccm Toxinlösung I subkutan geimpft	19. X.	20. X., 1450 g, munter 21. X., 1425 g, » 22. X., 1355 g, Abdom. aufgetrieben. 23. X., 1310 g, Diarrhöe 24. X., 1180 g, » 25. X., 1120 g, » 26. X., 1140 g, » 27. X., 1175 g, keine 28. X., 1180 g, sehr empfindlich, 30. X., 1240 g, auch träg. 31. X., 1285 g, » » Bis zum 6. XI. keine Veränderungen, nur das Gewicht nimmt fortwährend beträchtlich ab. 6. XI., 1150 g, Hasensprung 9. XI., 1205 g, Hasensprung. 11. XI., 1260 g, 13. XI., 1325 g, 20. XI., 1300 g, 27. XI., 1180 g, 2. XII., 1120 g, 9. XII., 1085 g, starker Hasensprung u. beim Springen schleudert es mit der hinteren Extremität.	14. XII.	Leiche 935 g schwer. Absolut keine Kontraktur.
15	Maus	18	0,8 ccm Blut v. Kaninchen Nr. 14 nach 2 Std. nach der Injektion aus der Ohrvene entnommen.	»	Nach 2 Tagen sehr empfindlich, struppig. Haar, träge.	6. XII.	Sehr mager.
16	»	16	»	»	»	9. I. 06.	»
17	»	17	»	»	»	20. XI.	»

die mit 0,5 ccm der Rückenmarksemulsion geimpfte (Nr. 9) in drei Tagen eingegangen, unter dem Bilde der typischen Robbenstellung. Dagegen zeigte die zweite (Nr. 8), mit 0,2 Rückenmarks-

emulsion geimpfte Maus keine tetanischen Erscheinungen, war stark abgemagert und ging am zwölften Tage ein, und eine von den mit je 0,4 ccm Blut geimpften Mäusen (Nr. 3) ist erst nach 37 Tagen eingegangen, war auch stark abgemagert, ohne irgendwelche tetanische Erscheinungen zu zeigen.

Noch auffallender waren die Erscheinungen bei dem geimpften Kaninchen Nr. 14. Die ersten drei Tage sah es ganz munter aus, aber es nahm fortwährend beträchtlich an Gewicht ab. Am vierten Tage stellte sich eine starke Diarrhöe ein, die vier Tage anhielt. Nachher hat sich das Tier erholt, aber am 18. Tage trat neben einer starken Empfindlichkeit ein ausgesprochener Hasensprung zutage, der bis zum Tode bestehen blieb. Das Kaninchen ist andauernd abgemagert, hatte keine Frefslust, sah elend aus und ist nach ca. zwei Monaten eingegangen, ohne irgendwelche typische tetanische Erscheinungen zu bieten.

Zwei Stunden nach der Impfung wurde vom Kaninchen aus der Ohrvene Blut entnommen und auf Mäuse (15, 16 und 17) verimpft. Auch diese sind erst nach 32, 48 bzw. 79 Tagen an Marasmus zurgunde gegangen.

Wie bekannt, hat Dönitz folgende Beobachtung gemacht: »Wenn man Kaninchen eine geringe Menge reines Gift oder ein nicht genau neutralisiertes Gift-Heilserumgemenge intravenös einspritzt, so kommt es vor, dafs die Tiere stark abmagern, ohne dafs sich bei ihnen eine Spur von Tetanus zeigt. Bei anderen treten geringe tetanische Erscheinungen, z. B. leichte Nackenstarre, interkurrent auf. Selten erholen sich solche Tiere wieder, meist gehen sie unter starker Abmagerung zugrunde.«[1])

Anderseits haben Roux und Borrel[2]) nachgewiesen, dafs:

»Das Meerschweinchen und Kaninchen bei zerebraler Gifteinführung mit Hasensprüngen, epileptischen Krisen, Polyurie und motorischen Störungen reagiert, und bei dieser Gifteinverleibung die Kontrakturen fehlen.«

1) Deutsche med. Wochenschr., 1897, Nr. 27, S. 430.

2) Nothnagels spezielle Pathologie und Therapie, 1901, S. 27.

In meinem Versuche an dem Kaninchen 14, dem eine Menge von 5 ccm 5 proz. älterer Toxinlösung subkutan einverleibt war, traten zu gleicher Zeit Marasmus und die von Roux und Borell geschilderten zerebralen Erscheinungen hervor, was man vielleicht auch anders, wie es die erwähnten Autoren glaubten, deuten kann, wofür auch die später zu schildernden Beobachtungen sprechen.

Wir wollen aber zu den eigentlichen Fütterungsversuchen übergehen.

Die Fütterung von Meerschweinchen und Kaninchen wurde mit einem ganz feinen Nelatonkatheter ausgeführt. Im Gegensatz zu Thalmanns Behauptung, dafs »es unmöglich ist, den Meerschweinchen auch durch einen ganz schwachen Katheter die Kulturen in den Magen einzuführen«, mufs ich hervorheben, dafs es regelmäfsig sehr leicht gelingt, wenn man einen ganz weichen Nelatonkatheter benutzt und ihn durch einen zwischen die Zähne des Tieres eingeklemmten, mit einem halbkreisförmig ausgebohrten Gang versehenen Würfel einführt. In der bezeichneten Weise ist es mir immer gelungen, die Tiere zu füttern und keines hat jemals etwas aspiriert.

Es wurden zwei Kaninchen mit Toxin, ein Kaninchen mit Toxin und Kulturen, ein Kaninchen mit Agarkulturen und eins mit Gelatinekulturen gefüttert. In gleicher Weise und mit demselben Material wurden auch Meerschweinchen gefüttert, und aufserdem, mit Rücksicht auf die eigenartigen Ergebnisse des Vorprüfungsversuches am Kaninchen Nr. 14, sind zum Vergleich einige Kaninchen subkutan resp. intravenös mit gleichem Material geimpft worden.

Um auch die bei der Schilderung der Versuche von Ransom geäufserten Erwägungen nachzuprüfen, habe ich von einem mit 20 ccm Toxinlösung geimpften Kaninchen und Meerschweinchen vor der Fütterung und 2 und 4 Stunden nach derselben Kot und Urin isoliert entnommen und auf Mäuse verimpft.

Vor der Fütterung wurde der Kot durch Massage ausgeprefst und der Urin vermittelst eines Nelatonkatheters entnommen.

Und um nach der Fütterung Urin und Kot getrennt zu bekommen, wurde dem Tier auf die gesäuberte Genitalgegend ein kleiner Glasbecher mit um den Körper herumgeschlungenen Bändern befestigt und es in einem gepolsterten Kaninchenbehälter eingesperrt, so dafs es sich nicht bewegen konnte.

Auch verschiedene Organteile und Kot von den verschiedenen Abschnitten des Verdauungstraktus eines Kaninchens wurden auf Mäuse verimpft (Tabellen III und IV).

Wie die Tabellen III und IV zeigen, haben fast sämtliche wie mit Toxin, ebenso mit Kulturen gefütterte Kaninchen fortwährend und beträchtlich an Gewicht abgenommen, aber nur zwei mit Toxin gefütterte und eins, dem das Toxin in die Ohrvene eingespritzt war, haben aufserdem auch mit Hasensprung reagiert.

Von den zwei mit je 10 ccm Toxin gefütterten hatte das alte (Nr. 1) 1480 g schwere keine zerebralen Erscheinungen und ist am Leben geblieben, während bei dem jungen (Nr. 13) 500 g schweren nach 29 Tagen Hasensprung auftrat, es ging nach 45 Tagen ein, ohne irgendwelche Kontrakturen zu zeigen. Dagegen zeigte sich beim alten Kaninchen (Nr. 2) nach Verfütterung von 20 ccm Toxin schon nach 14 Tagen Hasensprung und ein anderes (Nr. 19) 1860 g schweres hatte keinen Hasensprung und zeigte kurz vor dem Tode eine Streckung der vorderen Extremitäten. Ob die Unterschiede in den Erscheinungen auf die Altersdifferenz, das Impfmaterial, individuelle Besonderheiten oder auf die nachgewiesene Lebercoccidiose zurückzuführen sei, blieb unentschieden. Allerdings hatte auch das erwähnte Kaninchen (Nr. 19) eine stark ausgebreitete Lebercoccidiose.

Bemerkenswert ist auch die Tatsache, dafs bei dem mit Agarkultur gefütterten Kaninchens (Nr. 17), das am dritten Tage einging, der Magen mit Speisen prall gefüllt, alle Därme dagegen ganz leer waren, und dafs das mit 3 ccm (!) auf 80° erwärmter Kultur subkutan geimpfte Kaninchen (Nr. 18) am Leben blieb, während das mit derselben Kultur gefütterte Kaninchen (Nr. 19) nach 20 Tagen einging.

(Fortsetzung des Textes auf S. 133.)

Tabelle III.

Lfd Nr.	Tierart	Gewicht in g	Art der Impfung	Tag der Impfung	Verlauf	Tag des Todes	Bemerkungen
1	Kaninchen	1480	10 ccm 5 proz. Toxinlös. I mit dem Nelatonkathet. in den Magen eingeführt.	19. X.	Bis 23. X. ganz munter, 1425 g. 24. X., 1940 g, Diarrhöe, die drei Tage dauert. 27. X., 1265 g, O.B. 4. XI. 1190 g, träge. 10. XI. 1250 g. Dann erholt sich aber noch am 20. XII., 1420 g.	—	Bleibt a. Leb.
2	»	1490	20 ccm 5 proz. Toxinlös. I i. gl. Weise in den Magen eingeführt.	20. X.	Bis 27. X. munter, aber verliert an Gewicht. 28. X., 1395 g, sehr empfindlich, träge. 30. X., 1310 g auch. 2. XI. 1265 g, der Nacken sehr steif u. läfst sich nicht z. Seite bewegen. 3. XI. 1290 g, Hasensprung. 6. XI, 1245 g, auch. 9. XI., 1155 g, auch. 12. XI., 1270 g. auch. Bis 29. XI. nimmt an Gewicht zu. 29. XI., 1520 g, sieht munt. aus. Hasensprung 30. XI. 1460 g. 31. XI., 1390 g, Nachher zeigt das Gewicht unb. Schwank.	7. I. 06.	Vord. Extr. gestreckt, der Nacken steif.
			20 ccm Gelat.-Tetanuskult. (10 Tag altes Röhr.) in den Magen eingeführt.	29. X	Am 6. I 1345 g und so empfindlich, dafs beim leichtest. Berühren zusammen zuckt, rückt aus und springt weg.		
3	Maus	14	0,8 ccm Urin v. Kaninchen Nr. 2 vor der Fütterung.	20. X.	In den ersten Tagen sehr empfindl., Parese der hinter. Extremität, träge, aber erholt sich.	—	Bleibt a. Leb.
4	»	15	0,5 ccm Urin v. dems. Kan. n. 2 Std. nach d. Fütterung.	»	»	—	»
5	»	13	0,8 ccm Urin v. dems. Kan. n. 2 Std. nach d. Fütterung.	»	22. X. linke hint. Extr. gestreckt.	27. X.	Linke hinter. Extrem. gestreckt.
6	Meerschw.	390	5 ccm Urin v. dems. Kan. n. 2 Std. nach d. Fütt., subr.		Wie Maus Nr. 3.	23. XII.	O. B.

Fortsetzung der Tabelle III.

Lfd. Nr.	Tierart	Gewicht in g	Art der Impfung	Tag der Impfung	Verlauf	Tag des Todes	Bemerkungen
7	Maus	14	0,8 ccm Urin v. dems. Kan. nach 4 Stdn.		Wie Maus Nr. 3.	—	Bleibt a. Leb.
8	»	16	0,8 ccm Urin v. dems. Kan. nach 4 Stdn.		»	—	»
9	»	17	0,5 ccm Blut v. dems. Kan. nach 2 Std.		munter.	—	»
10	»	15	»		Sehr empfindl., träge und struppiges Haar.	23. XI.	O. B.
11	»	14	0,5 ccm Kot. v. dems. Kan. nach 4 Stdn.		»	22. X.	»
12	»	18	0,8 ccm Kot. v. dems. Kan. nach 4 Stdn.		»	—	Bleibt a. Leb.
13	Kaninchen	500	10 ccm Toxinlösung I durch den Nelatonkath. in den Magen eingeführt.	21. X.	Die erste Zeit munter und nimmt an Gewicht zu. 5. XI. 590 g. 6. XI. 560 g. 9. XI. 500 g. 11. XI. 455 g. 14. XI. 425 g. 19. XI. 410 g. Hasensprung. Nachdem nimmt immer an Gewicht zu. 2. XII. 520 g, aber sieht elend aus.	5. XII.	Stark ausgebreitete Lebercoccidiose.
14	»	800	1 ccm 5 proz. Toxinlös. I in die linke Ohrvene	»	22. X. 740 g. Das Ohr gelähmt. 23. X. 710 g. Die vorder. Beine stark gestreckt und bleiben so auch beim Laufen. 28. X., 650 g, Diarrhöe. 30. X., 580 g, Kontraktur der Wirbelsäule und leichte Parese der hint. Extremit. 31. X. 530 g. Hasensprung.	1. XI.	Linkes Ohr gelähmt, alle Beine stark gestreckt u. Kontraktur der Wirbelsäule.
15	»	410	1/2 ccm 5 proz. Toxinlös. I in die rechte Ohrvene.	»	22. X., 320 g, liegt ohnmächtig; beim Aufstellen fällt um; stark Dyspnoe und absolute Unempfindlichkeit. Stimme sehr leise und heiser. Auch auf ganz tiefe Nadelstiche reagiert nicht. Durch Chloroform getötet.	22. X.	Magen prall gefüllt, ebenso der Dickdarm.

Tabelle IV.

Lfd. Nr.	Tierart	Gewicht in g	Art der Impfung	Tag der Impfung	Verlauf	Tag des Todes	Bemerkungen
1	Maus	13	Mit 0,8 ccm Blut vom Kanin. Nr. 15 (Tab. III).	22. X.	munter	—	Bleibt a. Leb.
2	»	14	»	»	Einige Tage sehr empfindlich u. träge, dann erholt sich.	—	»
3	»	13	Mit 0,5 ccm Galle von Kanin. Nr. 15 (Tab. III).	»	24. X. hint. link. Extremität gestreckt.	27. X.	Robbenstellung
4	»	14	Mit 0,8 ccm Urin vom Kanin. Nr. 15 (Tab. III).	»	Wie bei der Maus Nr. 2.	—	Bleibt a. Leb.
5	»	15	»	»	Dauernd empfindlich, Krämpfe, Zuckungen, träge.	3. XI.	O. B.
6	»	12	Mit 0,6 ccm Kot, Magen.	»	munter.	23. XI.	Milz stark vergröfsert.
7	»	14	»	»	munter.	—	Bleibt a. Leb.
8	»	16	Mit 0,6 ccm Kot, Dünnd	»	Wie bei der Maus Nr. 2.	19. XII.	Stark abgemagert.
9	»	18	»	»	auch	—	Bleibt a. Leb.
10	»	15	Mit 0,6 ccm Kot, Dickd.	»	auch	24. XI.	Milz sehr grofs und bein. schwarz
11	»	18	»	»	auch	25. X.	»
12	»	13	Mit 0,8 ccm Leberemulsion.	»	23. X. linke hint. Extremität gestreckt.	26. X.	Robbenstellung.
13	»	15	»	»	25. X. recht. hint. Extremität gestreckt.	7. XI.	
14	»	14	Mit 0,8 ccm Milzemulsion.	»	23. X. linke hint. Extremität gestreckt.	25. X.	»
15	»	16	»	»	»	27. X.	»
16	Kan.	1775	2 ccm einer Aufschw. von einer Agarkult. (4 T. a.) i. 10 ccm Kochsalzlös. in die l. Ohrvene.	27. X.	Das Tier nimmt regelmäfsig zu, frifst gut u. zeigt überhaupt keine krankhaften Erscheinungen.	—	Bleibt am Leben.

Fortsetzung der Tabelle IV.

Lfd. Nr.	Tierart	Gewicht in g	Art der Impfung	Tag der Impfung	Verlauf	Tag des Todes	Bemerkungen
17	Kaninchen	1690	Die Aufschw. von 7 Agarklt. i. Kochsalzl d. d. Nelatonk. i den Magen eingeführt.	22. XI.	23 XI. 1570 g. Nichts zu bemerken. 24. XI. 1535 g, träge 25. XI. früh 1490 g, träge. abends †.	25. XI.	Der Magen prall gefüllt, alle Därme ganz leer.
18	›	1830	Von 3 verflüs. Gelatinekult. m. d. Stichteil v 3 Agarkult. 3 ccm nach ½ stündigem Wärm. b. 80° subkutan auf Rücken verimpft.	›	24. XI. 1760 g. Empfindlich, träge. 26. XI. 1690 g, Parese der hint. Extrem. 29. XI. 1680 g. Die hint. Extrem. stark angezogen an den Abdomen u. werden beim Bewegen geschleppt. 3. XII. 1560 g. 6. XII. 1630 g. 10 XII. 1750 g. 17. XII. 1820 g. 22. XII. 1845 g.	—	Bleibt am Leben. Die Kontraktur der hinteren Extremitäten besteht.
19	›	1860	Aus demselb Gemisch der Kulturen, wie bei Nr. 18 d. den Nelatonkath. 20 ccm in d. Magen eingeführt.	›	23. XI 1950 g. Leib aufgetrieben, träge. 24. XI 1990 g, auch 25. XI. 1695 g, Diarrhöe, die 3 Tage angehalten hat. 2. XII. 1810 g. 5. XII. 1820 g, 10. XII. 1870 g.	12. XII.	Stark ausgebreitete Leber-coccidiose. Streckung der vorderen Extremität.
20	Maus	16	Mit 0,6 ccm Kotemuls. von Kaninch. Nr. 19 vor der Fütterung.	›	23. XI. empfindlich, struppig. Haar, bewegt sich träge im Laufe einer Woche, dann erholt sie sich.	2 XII.	O. B.
21	›	18	Mit 0,6 ccm Kotemuls. 6 Std. nach d Fütterung.	›	Wie bei der Maus Nr. 2.	7. XII.	›
22	›	15	Mit 0,6 ccm Urin nach 3 Std. nach d. Fütterung.	›	23. XI. munter. 24. XI. empfindlich, träge. 25. XI. Parese der hint. Extremität.	26. XI.	Robbenstellung.
23	›	17	Mit 0,6 ccm Urin v. Kan. v. d. Fütter.	›	Dauernd munter.	—	Bleibt am Leben.

Im ganzen sind von den fünf gefütterten Kaninchen vier nach längerer oder kürzerer Zeit eingegangen.

Von den drei intravenös geimpften Kaninchen hat sich das mit 2 ccm Kultur geimpfte (Nr. 16) ganz erholt und ist am Leben geblieben, während beide mit Toxin geimpften (Nr. 14 und 15) eingegangen sind, und zwar: das ältere, welches nach einigen Tagen mit Lähmungen, einer Kontraktur der Wirbelsäule und Hasensprung reagierte, nach 11 Tagen, und das zweite jüngere wurde schon am nächsten Tage tot aufgefunden.

Von den Mäusen, die mit vom Kaninchen 2 (Tab. III) nach 2 resp. 4 Stunden entnommenem Blut, Urin und Kot geimpft waren, ist eine (Nr. 5) mit nach 2 Stunden erhaltenem Urin geimpfte nach 7 Tagen mit tetanischen Erscheinungen zugrunde gegangen, eine (Nr. 10) mit 0,5 Blut geimpfte starb nach 3 Tagen und eine mit 0,5 Kot nach 2 Tagen, aber keine von den beiden letzteren zeigte die typische Robbenstellung, obgleich auch sie, wie alle anderen, auch die mit dem vor der Fütterung entnommenen Material geimpfte, krank aussahen und sehr empfindlich waren.

Anders haben sich die mit Organemulsionen und Exkreten von Kaninchen 15 geimpften Mäuse (Tab. IV) verhalten. Es sind von diesen 11 (von 15) im Laufe von 24 Stunden bis 2 Monaten zugrunde gegangen, aber eine typische Robbenstellung ist nur bei den mit Galle, Leber- und Milzemulsion geimpften aufgetreten. Auffallend ist es, dafs auch das Kaninchen, von dem das Material zur Impfung entnommen war, nur 410 g schwer und schon nach 24 Stunden im Eingehen war. Auch von den mit Kot und Urin vom Kaninchen (Nr. 19) geimpften Mäusen ging eine mit Urin geimpfte nach 4 Tagen ein, während von den mit Kot geimpften die mit dem vor der Fütterung entnommenen Kot nach 10 Tagen, und eine von den mit 6 Stunden nach der Fütterung erhaltene geimpften nach 15 Tagen zugrunde ging.

Auch hier zeigte nur eine von dem mit 3 Stunden nach der Fütterung erhaltenen Urin geimpfte Maus die typische Robbenstellung.

Wie wir sehen, kann man aus den Ergebnissen der an den Mäusen ausgeführten Versuche keine bestimmten Schlüsse über irgendwelche Beziehungen derselben zu der vorausgegangenen Fütterung oder Injektion der Tiere, von denen das Impfmaterial entnommen wurde, ziehen.

Bemerkenswert ist es aber, dafs unter den geimpften Mäusen nur die mit Galle, alle mit Leber- und Milzemulsion geimpften und zwei von denjenigen, die mit nach $2^1/_2$—3 Stunden nach der Fütterung erhaltenem Urin geimpft waren, mit typischen, tetanischen Erscheinungen in einigen Tagen zugrunde gingen. Die Meerschweinchen haben im allgemeinen ebenso wie die Kaninchen auf die per os eingeführten Toxine und Kulturen reagiert. Die Erscheinungen waren nur insofern von denjenigen bei den Kaninchen abweichend, als bei keinem der gefütterten Meerschweinchen Hasensprung zur Beobachtung gekommen ist, obgleich sie mit demselben Toxin und mit gleichen Dosen gefüttert waren. Aufserdem ist keins von den mit Toxin gefütterten eingegangen; von den mit Tetanuskulturen gefütterten ging nur dasjenige, welchem Gelatinekulturen eingeführt waren, an Marasmus zugrunde.

Allerdings mufs hervorgehoben werden, dafs beide mit Toxin gefütterte Meerschweinchen trächtig wurden, was, meines Erachtens, irgendwelchen Einflufs auf die Ergebnisse des Versuches haben konnte (Tabelle V).

Übrigens, wie die Tabelle V zeigt, sind auch die Meerschweinchen (das mit Agarkulturen gefütterte ausgeschlossen) regelmäfsig und fortwährend abgemagert, und eins, Nr. 12, ging an Marasmus zugrunde.

Aufserdem hat das mit 20 ccm Toxin gefütterte Meerschweinchen schon zwei Tage nach der Fütterung eine sehr starke Kontraktur der Halsmuskulatur bekommen, die noch nach drei Monaten bestand. Es ist selbstverständlich nicht ausgeschlossen, dafs beim Einführen des Katheters die Rachen- oder Ösophagusschleimhaut verletzt wurde (obgleich ich keine Gewalt anzuwenden brauchte), aber dann widerspricht dieser Versuch den oben erwähnten von Thalmann.

Tabelle V.

Lfd. Nr.	Tierart	Gewicht in g	Art der Impfung	Tag der Impfung	Verlauf	Tag des Todes	Bemerkungen
1	Meerschw.	415	10 ccm 5 proz. Toxinlös. I mit Nelatonkathet. in den Magen eingeführt.	19. X.	20. X., 380 g, träge. 21. X. 385 g, 23. X. 360 g, stöhnt fortwähr. 24. X. 340 g, stöhnt fortwähr., sehr empfindlich. 26. X. 370 g, sehr empfindlich. Im weiteren Verlauf nimmt fortwährend an Gewicht zu, es stellt sich nachher heraus, dafs es trächtig ist.	—	Bleibt a. Leb. u. zeigt keine tetanisch. Erscheinungen. Wirft 2 Jung., von denen d. eine tot ist, der andere munter und entwickelt sich gut.
2	›	345	20 ccm Toxinlösung I in gleich Weise in den Magen eingeführt.	20. X.	21. X. 375 g ist sehr empfindl. f. jede Erschütterung, träge. 22. X. Kontraktur d. Halsmuskul., der Kopf hat d. Stellung eines Caput obstipum, u. ist auch mit Gewalt nicht gerade zu stellen. 23. X., 315 g, Diarrhöe dauert 2 Tage. 25. X., 325 g, Zittern, zuckt u. knirscht mit d. Zähnen. 27. X., 360 g, Allgemeinbefind. bess. Nimmt im weiter. Verlauf fortwäh. zu, da es trächtig ist.	—	Bleibt a. Leb. u. behält die Kontraktur. Wirft 3 Jung., von denen 2 tot sind. Das 3. stirbt am 4. Tage.
3	Maus	12	0,8 ccm Urin v. Meerschw. Nr. 2 vor der Fütterung entnommen.	›	21. X. Sehr empfindl., struppiges Haar und träge.	27. X	Ohne Besond.
4	›	15	0,5 ccm Urin v. Meerschw. nach 2 Stdn. nach der Fütterung.	›	auch.	—	Bleibt a. Leb.
5	›	11	auch.	›	21. X. link. hint. Extr. gestr., empfindl. u. träge.	4. XI.	Linke hinter. Extr. gestr.
6	›	13	0,5 ccm Urin v. Meerschw nach 4 Stdn. nach der Fütterung.	›	Empfindlich u. bewegt sich sehr träge.	—	Bleibt a. Leb.
7	›	12	auch.	›	›	—	›
8	›	14	0,5 ccm Kotemulsin v. Meerschw. 2 Stdn. vor d. Fütterung.	›	26. X. Eine Geschwulst, die nach einigen Tagen erweicht und entleert Eiter.	—	›

Fortsetzung der Tabelle V.

Lfd. Nr.	Tierart	Gewicht in g	Art der Impfung	Tag der Impfung	Verlauf	Tag des Todes	Bemerkungen
9	Maus	16	0,5 ccm Kotemulsin v. Meerschw. 4 Stdn. nach d. Fütterung.	20. X.	Wie bei der Maus Nr. 6.		Bleibt a. Leb.
10	»	13	auch.	»	Wie bei der Maus Nr. 3	25. XI.	Ohn. Besond.
11	Meerschw.	650	Die Stichteile v. 3 Agarkult. (4 Tag) in 20 ccm Kochsalzlösung durch den Katheter in Magen eingeführt.	25. X.	Dauernd Wohlbefinden u. nimmt fortwährend an Gewicht zu.	—	Bleibt a. Leb.
12	»	680	1. 20 ccm von 3 Verflüssig. Gelatinekult. durch den Katheter in den Magen eingeführt. 2. 10 ccm verflüssigt. Gelatinekultur (28 T.)	» 5. XI.	26. X., 650 g, munter. 27. X., 655 g, sehr empfindlich. 28. X., 685 g, stark heiser, beim Aufheben für die Rückenhaut strecken alle Extremitäten nach unten. 30. X. Allgemeinbefind. besser, heiser. 5. XI., 740 g, munter. 6. XI., 765 g, empfindl., träge. 7. XI., 685 g, sehr empfindlich. 8. XI., 645 g, auch, träge. 9. XI. 595 g, 10. XI. 535 g, 11. XI. 425 g. abends †.	11. XI.	Keine Kontrakturen. Alle Därme und Magen ganz leer.
13	»	560	In beiden Nasenöffngn. die Schleimhaut b. Blutg. verletzt und auf die verletzt. Stellen je 1 Öse Agarkultur angebracht.	28. X.	Ersten 3 Tage wenig, dann mehr empfindl. Beim Aufheben für die Rückenhaut streckt die Extremitäten, aber erholt sich.	—	Bleibt a. Leb.
14	»	625	In gl. Weise die Nasenschleimhaut verletzt u. je 1 Öse Toxinlösung eingebracht	»	auch.	—	Bleibt a. Leb.

Von Interesse ist noch, dafs beide mit Toxin gefütterte Meerschweinchen tote Junge geworfen haben.

Es wurde aufserdem zur Nachprüfung der Versuche von Thalmann noch zwei Meerschweinchen die Nasenschleimhaut bis zur Blutung stark lädiert und auf die lädierten Stellen Tetanustoxin bzw. -kulturen eingebracht. Beide Tiere waren die ersten 3—4 Tage sehr empfindlich, hatten keine Frefslust und sahen krank aus, aber haben sich bald ganz erholt, ohne irgendwelche tetanischen Erscheinungen zu zeigen.

Was die Mäuse, die mit dem vom Meerschweinchen 2 entnommenen Exkreten geimpft waren, betrifft, so gingen von den 8 geimpften Mäusen 3 ein, und zwar: eine (Nr. 3) mit Urin vor der Fütterung geimpfte nach 7 Tagen; eine zweite (Nr. 5) mit dem nach zwei Stunden erhaltenen Urin geimpfte — nach 15 Tagen und die dritte (Nr. 10) mit Kotaufschwemmung (vier Stunden nach der Fütterung erhalten) geimpfte — nach 36 Tagen. Und von allen zeigte nur die mit Urin geimpfte Maus (Nr. 5) eine Streckung des linken Hinterbeines.

Alle hier geschilderten Versuche haben, wie mir scheint, den Beweis dafür geliefert, dafs die Annahme, dafs das Tetanusgift, wie die Tetanusbazillen bei der Einführung in den Magen keine krankhaften Erscheinungen zu erzeugen imstande seien, unhaltbar ist, und dafs die von Ransom und Vincenzi ausgeführten Versuche keine Berechtigung zu den von den Autoren aus ihnen gezogenen Schlüssen geben.

Es blieb aber bei diesen Versuchen noch unentschieden, was eigentlich mit dem Virus bei der Passage des Verdauungstraktus geschieht, und warum nur die Gelatine-Tetanuskulturen bei dem Meerschweinchen und Kaninchen nach der Verfütterung einen Marasmus verursachen.

Da aber die Erfahrungen mit anderen Mikroorganismen, die auch, wie wir gesehen haben, vom Darmkanal aus ganz andere oder gar keine Erscheinungen hervorrufen konnten, gelehrt haben, dafs diese Eigentümlichkeit von der Einwirkung der Salzsäure des Magensaftes abhängig ist, so lag der Gedanke nahe, dafs es

sich auch beim Tetanusbazillus und seinen Toxinen so verhalten könnte.

Dafür sprachen auch die Erfahrungen einiger Forscher über die Wirkung der Salzsäure auf den Tetanusbazillus, bzw. das Tetanusgift.

So haben Tizzoni und Cattani[1]) festgestellt, dafs 1 ‰ Sublimat die Tetanussporen in 4 Stunden tötet; setzt man aber 0,5—1 % HCl hinzu, so werden sie schon nach 3 Stunden abgetötet. In einer anderen Arbeit haben Tizzoni und Cattani[2]) auch noch hervorgehoben: »Von den anorganischen Säuren setzt die Salzsäure schon in kleinen Mengen die Toxizität des Tetanusgiftes herab und hebt sie bei längerer Einwirkung ganz auf.«

Auch Kitasato[3]) hat hervorgehoben, dafs die Säuren auf das Tetanustoxin eine ziemlich intensive zerstörende Wirkung ausüben.

Diese Erwägungen im Zusammenhang mit der von Fermi und Celli[4]) gemachten Beobachtung, dafs der Speichel, das Pepsin, der Pankreassaft, die Galle, der Magensaft und die Mikroben keine zerstörende Macht über das Tetanusgift besitzen, führten zu der Vermutung, dafs die Frage geklärt werden könnte, wenn man, um naturgetreu vorzugehen, den Magensaft direkt bei 37° auf die Bazillen und das Toxin einwirken liefse und die Pathogenität derselben vor und nach der Behandlung mit dem Magensaft prüfte.

In gleicher Weise konnte auch die Ursache der eigenartigen Wirkung der Gelatine-Kulturen nachgeprüft werden. Diese Ursache konnte hier in der niedrigeren Temperatur (22°), bei der die Gelatine-Kulturen gegenüber den Agar-Kulturen (37°) gezüchtet waren, liegen, oder in dem langsameren Wachstum, oder, endlich, in den Eigenschaften des Nährbodens selbst. Mit acht verschiedenen in der Tabelle VI verzeichneten, nach Probefrühstück gewonnenen Magensäften, für die ich dem Herrn Geheim-

1) Archiv für experim. Pathologie und Pharmakol., Bd. 29, 1891.
2) Ebenda, Bd. 27.
3) Zeitschrift f. Hygiene, Bd. X.
4) Zentralblatt f. Bakter., Bd. XII, S. 617.

rat Prof. Dr. Ewald und Herrn Dr. Fuld zu Dank mich verpflichtet fühle, wurden die weiteren Versuche ausgeführt.

Vor der Benutzung wurden von jedem Magensaft, um über die Menge und Art der beigemengten lebensfähigen Bakterien unterrichtet zu sein, Gelatineplatten gegossen und Gelatineröhrchen geimpft und die angegangenen Kulturen mikroskopisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Prüfung sind in der Tabelle VI verzeichnet.

Tabelle VI.

Lfd. Nr.	Nummer des Magensaftes	Acidität		Gelatinepl.		Gelatineröhrchen		Mikroskopische Untersuchung
		freie	gesamt	n. 24 h.	n. 48 h.	Stich	Strich	
1	1791	36	62	0	+	0	0	Auf der Platte alpha 3 feine rundliche, graue homogene Kolonien. Mikroskopisch-Hefepilze.
2	1798	18	44	+	+	0	+	Auf den Platten alpha und beta graue und gelbliche runde Kolonien, auf der gamma 5 Kolonien — Hefepilze und Stäbchen.
3	1808	0	8	verflüssigt		+	+	Ziemlich reichliche Kolonien verschied Gröfse schon nach 12 Std. Mikrosk. — Stäbchen, Hefepilze und Sarcinen.
4	1833	10	26	+	++	+	+	Sehr zahlr. Kolonien auf alpha u. beta, auf gamma 12 Kolonien. Zahlr. Stäbchen u. Sarcinen.
5	1862	4	24	verflüssigt		+	+	Wenige Stäbchen, sehr viel Hefepilze u. einige Kokken.
6	Netzg.	40	70	0	0	0	0	—
7	1865	20	40	0	+	+	0	Nur auf alpha vier Kolonien — Hefepilze.
8	123	44	76	0	0	0	0	—

Die ersten Versuche mit den Säften Nr. 1791 und Nr. 1798 wurden in der Weise angestellt, dafs auf je 10 ccm Magensaft je 10 ccm verflüssigter (bei 37°) Gelatinekultur bzw. 2 ccm Tetanustoxin II[1]) gegeben und nach 2 resp. 15 Stunden dauernden Aufenthalt im Thermostaten bei 37° auf Mäuse subkutan oberhalb der Schwanzwurzel verimpft wurden.

Einen Teil der Röhrchen habe ich 15 Stunden im Thermostaten gelassen mit der Absicht, festzustellen, ob dadurch, wie es Kitasato[2]) behauptet hat, die Wirksamkeit des Toxins beeinflufst wird (Tabelle VII).

1) 0,000002 dieses Toxins haben eine Maus am 4. Tag getötet. 2) a. a. O.

Tabelle VII.

Lfd Nr.	Nr. des Magensaftes	Art u. Menge des Gemisches	Dauer im Thermost.	Injektionsmenge	Erste Erscheinungen	Ausgang	Bemerkungen
1	Kontrolltier	Gelatine-Reinkultur.	0	Drahtspitze	Nach 12 Std. rechte hint Extr. gestr.	† nach $6^1/_2$ Tagen.	Robbenstellung
2	»	Toxinlösung (5 %).	0	»	Nach 12 Std. hint. Extrem. gestreckt.	† nach 3 Tagen.	»
3	1791	10 ccm Gelatinekultur auf 10 ccm Magensaft.	2 h	0,2	Nach 14 Std. hint. Extrem. gestreckt.	† nach 28 Stunden.	»
4	»	»	»	0,4	?	† nach 18 Stunden.	»
5	»	»	15	0,2	Nach 22 Std. linke hint. Extr. gestr.	erholt sich.	Bleibt am Leben.
6	»	»	»	0,4	Nach 14 Std. linke hint. Extr. gestr.	† nach 26 Stunden.	Robbenstellung.
7	»	»	»	0,6	?	† nach 14 Std. aufgef. word.	?
8	»	10 ccm Magensaft auf 10 ccm Toxinlös. II.	2 h	0,2	keine.	munter.	Bleibt am Leben.
9	»	»	»	0,4	»	»	»
10	»	»	0	0,2	Nach 12 Std. Parese d. hint. Extr., empf.	erholt sich.	»
11	»	»	0	0,4	Dauernd sehr empfindlich, Parese der Extr., träge.	† nach $7^1/_2$ Tagen.	Keine besonder. Erscheinungen.
12	1798	Wie bei Nr. 3.	2 h	0,2	Nach 15 Std. hinter. Extr. gestreckt.	† nach 28 Stunden.	Robbenstellung.
13	»	»	»	0,4		† nach 15 Std. aufgef. word.	»
14	»	»	15 h	0,2	keine.	† nach 9 Stunden.	?
15	»	»	»	0,4	Nach 12 Std. hintere link. Extr. gestr.	† nach 23 Stunden.	Robbenstellung.
16	»	»	»	0,6	?	† nach 8 Stunden.	»

(Fortsetzung der Tabelle VII.

Lfd. Nr	Nr. des Magen-saftes	Art u. Menge des Gemisches	Dauer im Ther-most.	Injek-tions-menge	Erste Er-scheinungen	Ausgang	Be-merkungen
17	1798	Wie bei Nr. 8.	2 h	0,2	keine.	munter.	Bleibt am Leben.
18	»	»	»	0,4	Parese der hint. Extr., empfindlich.	erholt sich.	»
19	»	»	0	0,2	auch.	auch.	Nach 4 Woch. lebt noch u. sieht elend aus.
20	»	»	0	0,4	auch.	† nach 10 Tagen.	Sehr stark abgemagert.

Wenn wir die Wirkung des Virus auf die geimpften Mäuse vor und nach der Behandlung mit dem Magensaft vergleichen, so finden wir, dafs die zwei Stunden dauernde Einwirkung des Magensaftes die Toxizität der Bakterien und ihrer Gifte bedeutend herabgesetzt hat. Dabei haben der Magensaft, der die höhere Azidität besafs, und von den mit demselben Magensaft behandelten diejenigen Röhrchen, die 15 Stunden im Brutschrank standen, stärker die toxischen Eigenschaften des Virus beeinflufst. Und ein Vergleich der Wirkung der mit Magensaft behandelten Bakterien und Toxine zeigt, dafs die Toxizität des Giftes viel stärker beeinflufst war, als die Virulenz der Bakterien: während von den 12 mit Bakterien geimpften Mäusen nur eine (Nr. 3) am Leben blieb, überlebten von den 8 mit Toxin geimpften Mäusen 6.

Aber in Anbetracht dessen, dafs die Mäuse, wegen der grofsen einverleibten Dosen des Virus in kurzer Frist starben und bei den Mäusen, die aufserhalb der Beobachtungszeit, zwischen 8 Uhr abends und 8 Uhr früh, eingegangen sind die Zeit so berechnet wurde, als ob sie um 2 Uhr nachts starben, so schien mir die Frage noch nicht definitiv entschieden. Denn dadurch mufsten kleine Fehlerquellen entstehen, die aber bei den relativ kleinen Unterschieden in den Ergebnissen von grofser Bedeutung sein konnten.

Aus diesen Erwägungen konnte auch durch die in der Tabelle VII verzeichneten Versuche nicht entschieden werden, ob die bemerkten Veränderungen in der Tat auf die Salzsäure des Saftes zurückzuführen sind. Das haben aber unzweifelhaft die in der Tabelle VIII verzeichneten Versuche mit dem Magensaft Nr. 1808 bewiesen.

In diesem Magensaft war, wie die Tabelle VI zeigt, gar keine freie Salzsäure. Wenn also die Wirkung in den vorher erwähnten Versuchen auf die Salzsäure zurückzuführen war, so mufste man erwarten, dafs dieser Magensaft die Toxizität des Virus nicht oder nur sehr wenig beeinflussen würde.

Um dies entscheiden zu können, wurden in diesem Falle auf je 10 ccm Magensaft verschiedene Mengen (je 5 ccm; 3 ccm; 1 ccm und 0,2 ccm) der Gelatine-Kultur gegeben und 2 bzw. 4 Stunden im Brutschrank gehalten. Aufserdem, um eine gröfsere Beobachtungszeit zu schaffen, wurden die Mäuse gegen 8 Uhr abends geimpft und den nächsten Tag von 7 Uhr früh an beobachtet (Tabelle VIII).

Tabelle VIII.

Lfd. Nr.	Nr. des Magensaftes	Art u. Menge des Gemisches	Dauer im Thermost.	Injektionsmenge	Erste Erscheinungen	Ausgang	Bemerkungen
1	1808	5 ccm Gelat.-Kult. (12 Tag.) auf 10 ccm Magensaft.	2 h	0,2	Nach 11 Std. Streckung d. hint. Extrem.	† nach 13 Stunden	Robbenstellung.
2	»	»	»	0,4	?	† nach 11 Stunden	»
3	»	»	»	0,6	?	† nach 11 Stunden	»
4	»	3 ccm derslb. Kult. a. 10 ccm Magensaft.	»	0,2	Nach 11 Std. Streckung d. hint. Extrem.	† nach 13 ½ Stdn.	»
5	»	»	»	0,4	»	† n. 15 Stdn.	»
6	»	»	»	0,6	Nach 11 Std. sehr empfind. Keine Lähm.	† nach 3½ Tagen	Strupp. Haar, sehr mager.
7	»	1 ccm derslb. Kult. a 10 ccm Magensaft	»	0,2	Nach 11 Std. rechte hint. Extr. gestr.	† nach 23 Stunden	Robbenstellung.

Fortsetzung der Tabelle VIII.

Lfd Nr.	Nr des Magensaftes	Art u. Menge des Gemisches	Dauer im Thermost.	Injektionsmenge	Erste Erscheinungen	Ausgang	Bemerkungen
8	1808	1 ccm derslb. Kult. a. 10 ccm Magensaft.	2 h	0,4	Nach 11 Std. rechte hint. Extr. gestr.	† nach 18 1/2 Stdn.	Robbenstellung.
9	»	»	»	0,6	Nach 11 Std. hintere Extr. gestr., Dyspn.	† nach 12 1/2 Stdn.	»
10	»	0,2 ccm ders. Kult. a 10 ccm Magensaft.	»	0,2	Nach 11 Std. linke hintere Extr. gestr.	† nach 20 1/2 Stdn.	»
11	»	»	»	0,4	»	† nach 23 Stunden	»
12	»	»	»	0,6	Nach 11 Std. liegt auf dem Rücken, Krämpfe i. d. gestr. Extr., Dyspn. Beim Anlass. zuckt stark zusam. und bleibt tot an der Stelle.	† nach 11 1/4 Stdn.	»
13	»	Gemisch wie bei Nr. 1.	4 h	0,2	Nach 11 Std. d. recht. hint. Extrem.	† nach 19 Stunden	»
14	»	»	»	0,4	»	† nach 14 Stunden	»
15	»	Gemisch wie bei Nr. 4.	»	0,2	Nach 18 Std. Streckung d. link. hinter. Extrem.	† nach 69 Stunden	Keine Robbenstllg.
16	»	»	»	0,4	Nach 11 Std. d. hint. Extr. gestreckt.	† nach 22 Stunden	Robbenstellung.
17	»	Gemisch wie bei Nr. 7.	»	0,2	Nach 15 Std. d. recht. hint. Extr. gestr.	† nach 36 Stunden aufgefunden	»
18	»	»	»	0,4	Nach 18 Std. d. hint. Extr. gestreckt.	† nach 40 Stunden	»
19	»	Gemisch wie bei Nr. 10.	»	0,4	»	† nach 49 Stunden	»
20	»	»	»	0,2	Nach 11 Std. d. hint. Extr. gestreckt.	† nach 43 Stunden	»

In der Tat haben die Versuche ergeben, dafs selbst die Maus, welche mit 0,2 ccm des Gemisches von 10 ccm Magensaft und 0,2 ccm Kultur, also mit einer 50mal kleineren Menge von Bazillen geimpft war, schon nach 20½ Stunden eingegangen ist, während die in gleicher Weise mit 50mal gröfserer Menge vorher geimpften Mäuse erst nach 28 — 29 Stunden starben. Aufserdem scheint es, als ob auch hier das längere Verbleiben des Gemisches im Thermostaten die Virulenz der Bakterien stärker beeinflufst hat.

Bemerkenswert ist noch, dafs einige Mäuse sich ganz anders der Wirkung des Virus gegenüber verhalten haben. So ist die Maus Nr. 6, die mit 0,6 ccm geimpft war, erst nach 3½ Tagen eingegangen, während die mit 0,2 und 0,4 ccm derselben Mischung geimpften Mäuse schon nach 13½ und 15 Stunden eingingen, und aufserdem, ebenso wie die Maus 15, keine Robbenstellung zeigten.

Wenn also die in der Tabelle VIII verzeichneten Versuche bestätigen, dafs die Salzsäure des Magensaftes die Virulenz der Bakterien und die Toxizität des Giftes herabsetzen, so war es doch, um eine feste Überzeugung zu gewinnen, noch notwendig, weitere derartige Versuche mit verschieden sauren Magensäften und minimalen Dosen von Bakterien bzw. Gift anzustellen. Aufserdem mufste noch die Ursache der abweichenden Virulenz der Gelatine- und Agarkulturen festgestellt werden.

Zu diesem Zwecke wurden auf je 5 ccm Magensaft nur je 5, 3 und 2 Ösen[1]) Agarkultur oder je 1 und 0,2 ccm Gelatinekultur oder endlich je 1 ccm Toxinlösung II gegeben. Aufserdem war noch ein Gemisch von 5 ccm Magensaft, 5 ccm steriler Nährgelatine (amphoterer Reaktion) und 10 Ösen Agarkultur hergestellt und 2 und 14 Std. im Thermostaten gehalten (Tab. IX).

Wie die Tabelle IX zeigt, sind bei der Anwendung sehr kleiner Mengen von Agarkulturen die Unterschiede in der Wirkung der stark- und schwachsauren Magensäfte noch viel deutlicher zum Vorschein gekommen. Während die mit den mehr freie Salzsäure enthaltenden Magensäften Nr. 1865, Netzger und 123 behandelten Kulturen die geimpften Mäuse nicht zu

1) Öse = 2 mg.

Tabelle IX

Lfd Nr.	Nr. des Magensaftes	Art u. Menge des Gemisches	Dauer im Thermost.	Injektionsmenge	Erste Erscheinungen	Ausgang	Bemerkungen
1	1833	2 Ösen Agarkultur (4 Tag.) auf 5 ccm Magensaft.	2 h	0,2	Nach 69 Stdn. Parese der hint. Extrem.	Nach 7 Tag. d hint. Extr. gestreckt.	Nach 24 Tag. lebt noch.
2	»	»	»	0,4	Nach 42 Stdn. d. hint. Extr. gestreckt.	† nach 4 Tg. $14^1/_2$ Stdn.	Robbenstellung.
3	»	3 Ösen Agarkult. a. 5 ccm Magensaft.	»	0,2	Nach 63 Stdn. d. recht. hint. Extr. gestr.	Keine Veränder.	Nach 24 Tag. lebt noch.
4	»	»	»	0,4	Nach 39 Stdn. d. recht. hint. Extr. gestr.	»	»
5	»	5 Ösen Agarkult. a 5 ccm Magensaft.	»	0,2	Nach 35 Stdn. hint. Extrem. gestreckt.	† nach 68 Stunden.	Robbenstellung.
6	»	»	»	0,4	Nach 25 Stdn. d. hint. Extr. gestreckt.	† nach 47 Stunden.	»
7	»	10 Ösen Agarkult. (4 Tage) auf 5 ccm Magensaft u. 5 ccm Gelat.	»	0,2	?	† nach 17 Stunden.	»
8	»	»	»	0,4	?	† nach $14^1/_2$ Stdn.	»
9	»	»	14 h	0,2	?	† nach 11 Stunden.	»
10	»	»	»	0,4	?	† nach 9 Stunden.	»
11	1862	5 ccm Agarkult. a. 5 ccm Magensaft.	2 h	0,2	Nach 14 Stdn. der link. hint. Extr. gestr., nach 18 Stdn. beid. ht Extr.	† nach 49 Stunden.	»
12	»	»	»	0,4	Nach 12 Stdn. d. hint. Extr. gestreckt.	† nach 19 Stunden.	»
13	»	0,2 ccm Gelat. Kultur (10 T.) auf 5 ccm Magensaft.	»	0,2	Nach 12 Stdn. Pares. d. hint. Extr., nach 13 St. Streckg.	† nach 37 Stunden.	»
14	»	»	»	0,4	Nach 12 Stdn. d. hint. Extr. gestreckt.	† nach $21^1/_4$ Stdn.	»

Fortsetzung der Tabelle IX.

Lfd. Nr.	Nr. des Magensaftes	Art u. Menge des Gemisches	Dauer im Thermost.	Injektionsmenge	Erste Erscheinungen	Ausgang	Bemerkungen
15	1862	1 ccm Toxin II auf 5 ccm Magensaft.	2 h	0,4	Nach 12 Stdn. Parese, nach 15 Std. Streckung d. hint. Extrem.	† nach 50 Stunden.	Robbenstellung.
16	1865	5 Ösen Agarkult. (5 Tage) auf 5 ccm Magensaft.	»	0,2	Keine.	Munter.	Bleibt am Leben.
17	»	»	»	0,4	Nach 3 Tagen parese der linken hinter. Extrem.	Keine Veränderg.	»
18	»	1 ccm Gelat.-Kult. a. 5 ccm Magensaft.	»	0,2	Nach 13 Stdn. Streckung d. hint. Extr.	† nach 39 Stunden.	Robbenstellung.
19	»	»	»	0,4	»	† nach 15 Stunden.	»
20	»	1 ccm Toxin II auf 5 ccm Magensaft.	»	0,4	Nach 36 Stdn. Streckung d. linken Extr.	Munter.	Bleibt am Leben.
21	Netzger.	5 Ösen Agarkult. a. 5 ccm Magensaft	»	0,2	Keine.	»	»
22	»	»	»	0,4	»	»	»
23	»	1 ccm Gelat.-Kultur (9 Tg.) 5 ccm Magensaft.	»	0,2	Nach $3^1/_2$ Tag. linke hintere Extr. gestr.	Keine Veränderg.	»
24	»	»	»	0,4	Nach 37 Stdn. die link. hint. Extr. gestr.	† nach $6^1/_2$ Tagen.	Robbenstellung.
25	»	1 ccm Toxin II auf 5 ccm Magensaft.	»	0,4	Keine	Munter.	Bleibt am Leben.
26	123	5 Ösen Agarkultur (5 Tag. alt) 5 ccm Magensaft.	»	0,4	»	»	»
27	»	»	»	0,6	»	»	»
28	»	»	»	0,8	»	»	»

töten vermochten, hatten die mit dem Magensaft Nr. 1833, dessen freie Salzsäure gleich 10 war, behandelten Kulturen nur in den gröfsten benutzten Dosen in 47 und 68 Stunden die geimpften Mäuse getötet. Dagegen haben die mit dem Magensaft 1862, dessen freie Salzsäure nur = 4 war, behandelten Kulturen alle geimpften Mäuse in 19 bis 49 Stunden getötet.

Und besonders bemerkenswert ist es, dafs die oben erwähnten stärker sauren Magensäfte, die die Virulenz der Agarkulturen stark herabgesetzt oder vernichtet haben, es bei denselben nicht taten, wenn zum Gemisch noch 5 ccm Nährgelatine zugesetzt war, oder statt Agar- Gelatinekulturen angewandt wurden.

Noch auffallender ist die Tatsache, dafs die Mäuse Nr. 9 und 10, die mit demselben Gemisch von 10 Ösen Agarkultur, 5 ccm Magensaft und 5 ccm Nährgelatine, aber nach einem 14stündigen Aufenthalt im Brutschrank bei 37° geimpft waren, schneller starben als nach 2stündigem Aufenthalt desselben Gemisches in demselben Thermostaten. Einige individuelle Besonderheiten waren auch hier zu verzeichnen.

Die letzterwähnten auffallenden Ergebnisse der in der Tabelle IX verzeichneten Versuche haben den Gedanken geweckt, dafs diese eigentümlichen Erscheinungen vielleicht allein auf die Nährgelatine zurückzuführen seien.

Um dies zu entscheiden, wurden neue Versuche in der Art angestellt, dafs bei in gleicher Weise zusammengestellten Gemischen[1]) der Magensaft durch eine Verdünnung von Normal-

1) Da es wegen des hohen Schmelzgrades des Agars und seines schnellen Erstarrens bei der Zimmertemperatur unmöglich ist, die Agarkulturen im verflüssigten Zustande zur Injektion zu benutzen oder aus den Gelatinekulturen den Stichteil zu isolieren, so konnte kein einheitlicher Modus zur Quantitätsbestimmung der Kulturen angewandt werden. Es wurden deshalb von den Agarkulturen 5 Ösen (je 2 mg) aus dem Stichteil und von den verflüssigten und kräftig umgeschüttelten Gelatinekulturen 1 ccm zum Versuch benutzt. In Anbetracht dessen, dafs die hohen anaeroben Gelatineröhrchen ca. 20 ccm Gelatine enthalten und in der Gelatine die Bazillen viel spärlicher wachsen, kann man, meines Erachtens annehmen, dafs die Fehlerquelle nur unbedeutend war, jedenfalls nicht gröfser als bei der Bestimmung durch die Öse bei den verschiedenen Malen und Kulturen. Es ist eher anzunehmen, dafs in 1 ccm der Gelatinekultur noch weniger Bazillen als in 5 Ösen vom Stichteil der Agarkultur vorhanden waren.

salzsäure ersetzt, das Gemisch auch 2 Stunden im Thermostaten bei 37° gehalten und nachher auf Mäuse verimpft wurde (Tabelle X).

Tabelle X.

Lfd. Nr.	Art u. Menge des Infektions-materials	Dauer im Thermost.	Geimpfte Menge	Erste Erscheinungen	Ausgang	Bemerkungen
1	1 ccm Norm.-Salzsäure 10 ccm NaCl Lös. 5 Ösen Agarkultur (5 Tage).	2 h	0,4	Nach 24 Stdn. empfindlich und bewegt sich träge.	Erholt sich.	Bleibt am Leben.
2	1 ccm Norm. Salzsäure. 10 ccm NaCl-Lös. 1 ccm Gelatin.-Kultur (11 Tage).	»	0,4	Nach 40 Stdn. Lähmung des link. Hinterbeines.	† nach ca. 64 Stdn.	Robbenstellung.
3	0,5 ccm Norm.-Salzsäure. 10 ccm NaCl-Lös. 5 Ösen Agar kultur.	»	0,4	Keine.	Munter.	Bleibt am Leben.
4	0,5 ccm Norm.-Salzsäure. 10 ccm NaCl-Lös. 1 ccm Gelatinekultur.	»	0,4	Nach 51 Stdn. Lähmung des link. Hinterbeines.	† nach ca. 59 Stdn.	Robbenstellung.
5	0,2 ccm Norm.-Salzsäure. 10 ccm NaCl-Lös. 5 Ösen Agarkultur.	»	0,4	Nach 18 Stdn. bewegt die Hinterbeine schlecht.	Erholt sich.	Bleibt am Leben.
6	0,2 ccm Norm.-Salzsäure. 10 ccm NaCl-Lös. 1 ccm Gelatinekultur.	»	0,4	Nach 36 Stdn. beide Hinterbeine gestr.	† nach ca. 52 Stdn.	Robbenstellung.
7	0,1 ccm Norm. Salzsäure. 10 ccm NaCl-Lös. 5 Ösen Agarkultur.	»	0,4	Nach 21 Stdn. d. lnk. Hinterbein gestr.	Sieht krank a. Haar strupp., bew. sich träg.	Magert stark ab, aber nach 16 Tagen lebt noch.
8	0,1 ccm Norm.-Salzsäure. 10 ccm NaCl-Lös. 1 ccm Gelatinekultur.	»	0,4	?	Nach 15 Stdn. tot.	Alle Beine stark gestr.
9	1 ccm Norm.-Salzsäure. 10 ccm NaCl.	»	0,2	Keine.	Munter.	Bleibt a. Leb. (Kontr.-Vers.)
10	»	»	0,4	Nach 15 Stdn sieht kr. aus, Haar strupp., Beweg. träge.	Erholt sich.	»

Fortsetzung der Tabelle X.

Lfd. Nr.	Art u. Menge des Infektionsmaterials	Dauer im Thermost.	Geimpfte Menge	Erste Erscheinungen	Ausgang	Bemerkungen
11	1 ccm Tetanustox. II. 10 ccm NaCl-Lös. 1 ccm Norm.-Salzsäure.	2 h	0,2	Keine.	Munter.	Bleibt a. Leb. (Kontr.-Vers.)
12	»	»	0,4	Wie bei Nr. 10	Erholt sich.	»
13	0,5 ccm Norm.-Salzsäure. 1 ccm Toxin. 10 ccm NaCl-Lös.	»	0,2	Keine.	Munter.	»
14	»	»	0,4	»	»	»
15	0,2 ccm Norm.-Salzsäure. 1 ccm Toxin. 10 ccm NaCl-Lös.	»	0,2	»	»	»
16	»	»	0,4	»	»	»
17	0,1 ccm Norm.-Salzsäure. 1 ccm Tetanustoxin. 10 ccm NaCl-Lösung.	»	0,2	»	»	»
18	»	»	0,4	»	»	»
19	1 ccm Tetanustox. II. 10 ccm NaCl-Lösung.	»	0,2	Nach 15 Stdn. recht. Hinterbein, nach 18 beide Hinterbeine gestr.	† nach 58 Stunden.	Robbenstllg. (Kontroll-Versuch).
20	»	»	0,4	Nach 15 Stdn. beide Hinterbeine gestr.	† nach 47 Stunden.	»

Die Ergebnisse der in der Tabelle X verzeichneten Versuche haben die Vermutung, dafs die Gelatine die schädliche Wirkung der Salzsäure neutralisiert, bestätigt.

Während von den mit Gemischen von Agarkulturen geimpften Mäusen keine einzige eingegangen ist, so sind alle mit dem Gemisch von Gelatinekulturen geimpften nach 15 bis 64 Stunden zugrunde gegangen, und desto schneller, je weniger Salzsäure das Gemisch enthielt. Alle mit dem Gemisch von Tetanustoxin und Salzsäure geimpften Mäuse zeigten überhaupt keine Erscheinungen und sind am Leben geblieben.

Vielleicht dürften die letzterwähnten, wie auch die bei den Fütterungsversuchen zutage getretenen auffallenden Erschei-

nungen einen neuen Fingerzeig zur Erläuterung der Ehrlichschen Seitenkettentheorie bieten.

Wenn ich die Ergebnisse meiner Versuche zusammenfasse, so glaube ich folgende Schlüsse aus diesen ziehen zu dürfen:

1. Der Magensaft mit normalem oder gesteigertem Salzsäuregehalt vernichtet unter normalen Verhältnissen die Virulenz der Tetanusbazillen und ihrer Gifte, und zwar bei diesen schneller und intensiver als bei jenen.

2. Diese Wirkung des Magensaftes wird hauptsächlich durch die in ihm vorhandene Salzsäure bedingt und ist desto intensiver, je höher der Salzsäuregehalt des Magensaftes ist.

3. Auch eine 1 proz. Lösung der Normal-Salzsäure vernichtet unter gewöhnlichen Bedingungen nach einer zweistündigen Einwirkung bei 37° die Virulenz der Tetanusbazillen und ihrer Gifte und zwar der letzteren schneller als der ersteren, aber diese Wirkung der Salzsäure wird durch die Anwesenheit von Nährgelatine herabgesetzt.

4. Die den Kaninchen und Meerschweinchen in grofsen Dosen per os eingeführten Tetanusbazillen oder deren Gifte bewirken in der Regel keine tetanischen Erscheinungen, sondern einen Marasmus, an dem die Tiere häufig nach längerer Zeit zugrunde gehen.

5. Bei Kaninchen ruft das per os (ebenso wie intravenös und subkutan) eingeführte Gift häufig auch eigentümliche zerebrale Erscheinungen oder Kontrakturen hervor. Die letzteren kommen auch beim Meerschweinchen zur Beobachtung.

Hieraus folgt, dafs die Anwesenheit der Tetanusbazillen und ihrer Gifte im Darmkanal für deren Träger sehr gefährlich, ja sogar letal sein kann.

Über Zentrosomen und Dehlersche Reifen in kernlosen Erythrozyten.

Von

Dr. **A. Nifsle,**
Assistenten am Institute.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. Gruber.)

Für das Studium der Morphologie und Biologie von Blutparasiten ist naturgemäfs eine möglichst genaue Kenntnis der Histologie des normalen und des durch Anämie veränderten Blutes selbst unbedingte Voraussetzung; denn nur so ist es möglich, sich vor Verwechslungen und falschen Schlüssen zu bewahren. Das Kapitel der Blutkörperchenmorphologie ist aber noch keineswegs abgeschlossen, selbst unsere Kenntnisse von den scheinbar so einfach gebauten Erythrozyten haben im Lauf der letzten Jahre manche wesentliche Erweiterung erfahren.

Studien über Trypanosomen und die durch sie bedingte Anämie haben es mit sich gebracht, dafs auch ich mich eingehender mit den Erythrozyten, besonders denen der üblichen Laboratoriumstiere, beschäftigte. Die Resultate dieser Untersuchungen sind 1905 in diesem Archiv veröffentlicht worden. Sie zeigten das Vorkommen winziger Doppelpünktchen in roten Blutkörperchen gesunder kleiner Säuger (Maus, Ratte, Meerschweinchen), während das Vorhandensein derselben Gebilde im Blute gröfserer Säuger (Hund, Rind, Mensch) eine bestehende

Anämie voraussetzte. Diese Doppelpünktchen färben sich intensiv mit Eisenhämatoxilin und dem Romanowskyschen Chromatinrot; oft läſst sich um sie herum ein heller Hof erkennen; ihre Lage ist meist exzentrisch. Am häufigsten trifft man sie in polychromatischen, also in solchen jugendlichen Blutzellen an, in denen nicht selten noch Kernreste vorhanden sind. Form, Gröſse und Eigenschaften, besonders aber die fast stets deutliche Anordnung zu zweien veranlaſsten mich für ihre Deutung Zerfallsprodukte des Kerns auszuschlieſsen, die ja ihrer Natur nach den Stempel der Unregelmäſsigkeit tragen müſsten, sie vielmehr als gut erhaltene, wohl charakterisierte, präformierte Gebilde anzusehen. Als solche kommen nur Zentrosomen in Betracht, um so mehr, als die Doppelpünktchen eine auffallende Ähnlichkeit mit den von Dehler zuerst im Hühnerembryonenblut beschriebenen Zentrosomen ohne weiteres erkennen lassen.

Neuerdings hat Weidenreich, ohne meine Arbeit zu kennen, denselben Gegenstand bearbeitet; die von ihm beschriebenen Doppelpünktchen stimmen in Form, Lage, Gröſse und Eigenschaften vollkommen mit meinen Beobachtungen überein, nur will Weidenreich sie weit häufiger auch in orthochromatischen Erythrozyten, vor allem auch in denen gesunder Menschen, angetroffen haben, wo ich sie niemals gesehen habe. Vielleicht mag dieser Gegensatz dadurch bedingt sein, daſs Weidenreich in weit ausgiebigerem Maſse die Fixierung mit Osmiumsäuredämpfen bei der Herstellung seiner Präparate verwandt hat, während ich mich nur mehr ausnahmsweise dieser Methode bedient habe. Das von ihm angegebene Fixierungsverfahren ist nämlich in seinem Prinzip durchaus nicht neu, sondern schon vor ihm in nicht wesentlich verschiedener Form von Argutinsky bei Blutausstrichen angegeben, in erster Linie für Malariastudien, da bei der Fixierung der noch feuchten Blutausstriche die Parasiten im amöboiden Stadium ihre Pseudopodien vermöge der blitzartigen Tötung nicht mehr einziehen können, also in viel ausgesprocheneren Maſse ihre natürliche Form beibehalten. Das Verfahren verdiente daher in den Lehrbüchern über Malaria weit mehr hervorgehoben zu werden, als es tatsächlich geschieht.

Färbt man derartig fixierte Ausstriche nach Romanowsky bzw. Giemsa, so treten in einem Blut, das Kernzerfallprodukte enthält, diese in weit gröfserer Zahl als dunkelrote Körnchen hervor wie in gleichartigen, mit Alkohol fixierten Präparaten, worauf ich auch schon in der oben zitierten Arbeit hingewiesen habe.

Bei Osmiumsäurefixierung und Giemsafärbung nehmen allerdings die orthochromatischen Erythrozyten nach meiner Erfahrung meist einen etwas bläulichen Ton an, so dafs eine etwaige Polychromasie sich weniger gut abhebt. Das war ein Hauptgrund, warum ich die Alkoholfixierung im allgemeinen vorgezogen habe, zumal es mir auf eine momentane Abtötung von Parasiten nicht ankam.

Auch Weidenreich erkennt die grofse Ähnlichkeit der Doppelpünktchen mit Zentralkörpern an, leitet sie aber doch vom letzten übriggebliebenen Chromatinkorn des geschwundenen Erythroblastenkerns ab. Weidenreich will nämlich folgende Degenerationsstadien dieses Korns im embryonalen menschlichen Blut beobachtet haben: nachdem es sich vom übrigen Kern getrennt hat und dieser ausgestofsen worden ist, soll es zunächst einen helleren Farbenton annehmen, dann biskuitförmig werden und sich in zwei Körnchen teilen, aus denen die Doppelpünktchen hervorgehen. Gegen diese Ableitung aus dem letzten punktförmigen Kernrest möchte ich folgende Gründe anführen:

1. Die Doppelpünktchen fallen in genügend gefärbten Präparaten stets durch ihren dunklen, einem dichten Chromatin entsprechenden Farbenton auf, wie ihn auch die Weidenreichschen Abbildungen aufweisen; es müfste also in den Resten eines zerfallenen, abgestorbenen Kerns nach der durch den Zerfall erklärlichen Auflockerung des Chromatins noch wieder eine Verdichtung desselben eingetreten sein.
2. Würde das Vorhandensein eines ovalen Hofes um die Doppelpünktchen, wie ihn Weidenreich auch bei Osmiumsäurefixierung deutlich erkennen konnte, schwer zu er-

klären sein, da dieser Hof an den vorhergehenden Degenerationsstadien fehlen würde.

3. Wäre nicht einzusehen, warum am Schlusse dieses Zerfallprozesses in der Regel gerade zwei, stets aneinander gelagerte Körnchen erhalten bleiben, wo doch der Begriff Zerfall den der Unregelmäfsigkeit in sich birgt.
4. Kommen neben dem in der Fragmentierung begriffenen letzten Kernrest und auch neben dem noch vollständigen Kern Doppelpünktchen in ihrer typischen Form vor. Weidenreich bildet solche »Besonderheiten« in den Fig. 11 i und 11 n ab. Den Widerspruch glaubt er sich so erklären zu müssen, dafs im ersteren Falle ausnahmsweise zwei Kernrestpartikeln die Umwandlung zu den Doppelpünktchen durchmachen und sich nur in verschiedenen Phasen dieses Prozesses befinden. Im zweiten Falle soll die Abschnürung und die folgende Umwandlung bei Erhaltung des scheinbar noch vollständigen Kerns vor sich gegangen sein. Die Schwierigkeiten dieser Hypothese wachsen jedoch noch beträchtlich, wenn man Erythrozyten bei hochgradiger Anämie zum Gegenstand der Untersuchung wählt; man findet dann reichlich polychromatische Blutkörperchen, besonders Megalozyten, die neben den Doppelpünktchen Kernfragmente in grofser Zahl enthalten, so dafs von Besonderheiten nicht mehr die Rede sein kann. Unhaltbar aber wird die Erklärung Weidenreichs, wenn man seine Fig. 11 n mit den Dehlerschen Abbildungen embryonaler Hühnerblutkörperchen vergleicht, die ebenfalls neben dem Kern solche Doppelpünktchen enthalten und daher in ihrem ganzen Aussehen vollkommen übereinstimmen; denn hier, wo es sich um Dauerkerne handelt, kann ja eine Abschnürung vom Kern überhaupt nicht in Betracht kommen.

Auf Grund der Dehlerschen Beobachtungen am embryonalen Hühnerblut habe ich die in Säugetiererythrozyten gefundenen Doppelpünktchen für restierende Zentrosomen erklärt und im

Anschlufs daran ihre gröfsere Widerstandsfähigkeit im Vergleich mit dem Kern erörtert.

Die Vermutung Weidenreichs, dafs ein grofser Teil der Doppelpünktchen später zu Hämokonien werden kann, halte ich für berechtigt; denn auch mir ist die Ahnlichkeit mancher Hämokonien mit den Zentrosomen aufgefallen, und aufserdem habe ich in zerfallenden Erythrozyten bisweilen noch gut erhaltene Zentrosomen wahrnehmen können (s. Fig. 3 der früheren Arbeit).

Als mir im Beginn meiner Trypanosomenstudien die Zentrosomen der Erythrozyten in ihrer Regelmäfsigkeit auffielen, hegte ich eine Zeitlang den Verdacht, dafs sie mit den Parasiten in Verbindung ständen; ich vermifste sie in gesunden Ratten, sah sie während und besonders nach Ablauf der Infektion auftreten; aufserdem gaben die Lehrbücher der Histologie über diese Gebilde keinen Aufschlufs. Erst später fand ich nach Verbesserung der Färbetechnik die Zentrosomen auch im Blute gesunder Ratten, Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen und von Embryonen dieser Tiere, ferner bei Anämien gröfserer Tiere und des Menschen.

Beim Studium der A. Plehnschen Schrift: »Weiteres über Malariaimmunität und Latenzperiode« ist mir nun aufgefallen, dafs Plehn Gebilde als besondere Form von Malariaparasiten beschreibt und abbildet, deren Ähnlichkeit mit den Zentrosomen von Erythrocyten nicht zu bezweifeln ist. Sie sollen intensiv basisch gefärbte, scharf begrenzte Flecken darstellen, deren Gröfse $^1/_2\ \mu$ etwas überschreiten kann. Ferner sollen sie zwar in verschiedener Zahl im Blutkörperchen vorkommen, charakteristisch sei jedoch die paarige Anordnung, die vielleicht auf einen Teilungsvorgang hindeute. Mit der basophilen Körnung ständen sie nicht im Zusammenhang, da sie Kernfarben annähmen, sich also nach Romanowsky rotviolett färbten. »Diese Gebilde finden sich zuweilen einige Tage nach glücklichem Überstehen von Schwarzwasserfieber besonders schön entwickelt; ebenso wenn Kolonisten nach längerem Aufenthalt an der Westküste anämisch werden, ohne Fieber gehabt zu haben. Sie kommen aber eben-

wenig wie die Sporulationsformen bei jedem Malarischen stets im peripheren Kreislauf vor, ...« An anderer Stelle drückt sich Plehn vorsichtiger aus: »Findet man bei einem anscheinend Gesunden, für den die Möglichkeit einer Malariainfektion, und sei es vor Jahren, vorlag, rundliche, paarig geordnete, intensiv basisch gefärbte Körner in den roten Blutzellen, so ist man berechtigt, darin das sichere Zeichen zu erblicken, dafs die Latenzformen des Parasiten im Organismus sich fortentwickeln, dafs also jederzeit Fieberanfälle auftreten können, ohne Gelegenheit zur Neuinfektion.«

Nachdem aber Plehn vorher davon gesprochen hat, dafs er in den beschriebenen Gebilden Parasiten sieht, mufs ich ihm entgegenhalten, dafs eine Unterscheidung derselben von den Zentrosomen der Erythrozyten der Beschreibung wie den beigegebenen Abbildungen nach jedenfalls nicht möglich ist. Bemerkenswert ist, dafs Plehn in der Erklärung zu seinen Tafeln gerade auf solche endoglobulären Gebilde besonders hinweist (Taf. I, Fig. 15 rechts, Taf. II, Fig. 3 Mitte), die am deutlichsten die typische Zentrosomenform zeigen.

Plehn hebt nun weiter hervor, dafs sich seine »Parasiten« während der Fieberanfälle spärlicher als im fieberfreien Intervall fänden. Ebenso verhält es sich aber mit dem Sinken und Steigen der Zahl der Zentrosomen, die stets in um so gröfserer Menge auftreten, je schneller und reichlicher vorher Erythrozyten zerstört worden sind; jeder Malariafieberanfall ist aber mit einer akuten Abnahme der Erythrozyten verbunden. Daraus geht auch hervor, dafs das Blut nach einem Schwarzwasserfieberanfall ein besonders günstiges Material zum Auffinden der Zentrosomen darbieten mufs, und in der Tat konnte ich in Ausstrichen, die ich Herrn Professor Nocht verdanke, eine ganze Menge charakteristischer Zentrosomen beobachten, wenn ihre Zahl auch nicht an die bei Trypanosomeninfektionen von Laboratoriumstieren erreichte Vermehrung heranreichte.

Ich komme daher zu dem Schlufs, dafs der Beschreibung und den Abbildungen nach eine Unterscheidung der beschriebenen

Plehnschen Latenzformen von Erythrozytenzentrosomen nicht möglich ist; dafs ferner die gleichen Begleitumstände, die ihr Auftreten bzw. ihre Vermehrung veranlassen, ihre Identität wahrscheinlich machen. Berücksichtigt man ferner, dafs die Zentrosomen Plehn nicht bekannt waren, wenigstens nicht als solche, so fehlt jetzt seiner Auffassung überhaupt die notwendige Begründung, die er in der Besonderheit der morphologischen und tinktoriellen Eigenschaften seiner Körper zu sehen glaubte.

Nach meiner Überzeugung hat also Plehn die Erythrozytenzentrosomen vor mir gefunden und beschrieben, wenigstens im Blut Malariakranker, nur ihnen eine unberechtigte Deutung beigelegt.

In meiner Arbeit bin ich ferner auf eigentümliche in Erythrozyten eingelagerte Reifen kurz eingegangen, die bisher im Säugetierblut noch nicht beobachtet worden waren. Einige interessante Ergebnisse weiterer Studien über diese Reifen veranlassen mich, nochmals auf diesen Gegenstand zurückzukommen.

Als erster hat Dehler diese Gebilde im Blut von Hühnerembryonen gesehen (Schnittmaterial, Färbung mit Heidenhainschem Hämatoxilin). Nach ihm hat sich hauptsächlich Meves mit diesem Gebilde beschäftigt und es im Salamander- und Froschblut nachgewiesen; die Sichtbarmachung gelang ihm bei frisch fixierten Ausstrichen nur ausnahmsweise, dagegen regelmäfsig nach Einwirkenlassen einer $^{1}/_{4}$ proz. bis $^{1}/_{2}$ proz. Gentiana- oder Methylviolettlösung auf unvorbehandeltes Blut. Ferner zeigte sich, dafs verschiedene für die Blutkörperchen differente Reagentien den Reifen zum Vorschein brachten. Von besonderem Interesse ist die Torsion des am Rande des Erythrozyten verlaufenen Reifens, wie sie nach der Mevesschen Angabe hauptsächlich durch die Wirkung von Ammoniakdämpfen hervorgebracht wird; dabei wickeln sich die Längshälften des Reifens spiralig um einander. Im Anfang folgt das Blutkörperchenplasma dieser Torsion, später glättet es sich aber, so dafs die sich kreuzenden Längsseiten des Reifens im Innern sichtbar werden. Die Ursache dieser Glättung vermutet Meves in einer durch das Ammoniak bedingten gröfseren Leichtflüssigkeit des Plasmas.

Im Säugetierblut hat Meves mit seinem Verfahren die Reifen nicht nachweisen können.

Bei Zusatz von Gentianaviolettlösung zu Salamanderblutkörperchen erscheint der Reifen am Rande des Erythrozyten in Gestalt einer grofsen Anzahl paralleler Fäden bzw. eines Fadens, der zu einer Docke aufgewickelt ist (Meves). Ich habe mich selbst davon überzeugt; als ich aber mit Blut vom gleichen Salamander dasjenige Verfahren anwandte, mittels dessen die Reifen einzelner Meerschweinchen als ungeteilte, scharf konturierte, leuchtend rot gefärbte Bänder hervortraten (Alkoholfixierung und Giemsafärbung), war nichts zu erkennen, was auf ihr Vorhandensein schliefsen liefs. Wegen dieses verschiedenen chemischen Verhaltens halte ich deshalb die Reifen im Salamander- und Meerschweinchenblut nicht für vollkommen gleichwertig.

Meves erklärt den Reifen für die vereinigte Filarmasse, zwischen der und dem Kern die Interfilarmasse gelegen ist; er soll nach seinen Untersuchungen den Amphibienblutkörperchen die elliptische Form geben. Auch Dehler scheint schon in ihm eine Art Skelett des Erythrozyten gesehen zu haben, wenigstens spricht er davon, dafs im Reifen die Substanz der Zelle ausgespannt ist. Ruzicka hält den Reifen für den Ausdruck in die Länge gezogener Waben im Bütschlischen Sinne; zu ihrer Sichtbarmachung entfernt Ruzicka das Hämoglobin, fixiert dann mit Sublimat und behandelt die Blutkörperchen vor dem Färben noch mit einer Beize. Die so erhaltenen Wabenstrukturen hält Weidenreich für Artefakte, die durch das sehr eingreifende Verfahren bedingt sind. Er spricht sich vielmehr für eine wirkliche Fibrillennatur des Reifens aus. Da die Ausbildung des Reifens mit dem Auftreten des Hämoglobins zusammenfällt, vermutet er, dafs er aus indifferenziertem, vom Kern aus peripheriewärts verdrängtem Protoplasma entstanden sei, welches dann eine fibrilläre Differenzierung erfahren habe.

Was nun meine eigenen Befunde angeht, so beziehen sie sich auf Meerschweinchen, die infolge von Infektion mit Trypanosomen, und zwar besonders zur Zeit der Remissionen, stärkere Anämie zeigten. Ich betone aber, dafs auch unter diesen Be-

dingungen sich für Studien geeignetes, reichlicheres Material nur selten findet, unter ca. 35 darauf untersuchten Tieren nur bei zweien, die die Reifen allerdings in grofser Zahl enthielten. Meine Beobachtungen beziehen sich nur auf mit Alkohol fixierte, nach Giemsa gefärbte Ausstriche. Zwei solcher Befunde sind auf der meiner früheren Arbeit beigegebenen Tafel farbig dargestellt; der eine Reifen hat durch Drehung der einen Hälfte um 180° Achtform angenommen. Derartige Bilder sind nicht selten; sie erinnern sehr an die Mevesschen Beobachtungen über die Einwirkung von Ammoniakdämpfen auf Amphibienblutkörperchen. Der Drehung entsprechende Einschnitte am Rande des Blutkörperchens habe ich nie wahrgenommen; ich will aber damit nicht bestreiten, dafs sie vorhanden gewesen sein können; anderseits ist aber auch mit der Möglichkeit zu rechnen, dafs der Reifen im Plasma nicht absolut fixiert wäre.

Vergleicht man Blutausstriche aus dem Beginn der Anämie, wo die Blutkörperchenzahl am geringsten ist, mit solchen, die mehrere Tage später angefertigt wurden, so zeigen die Reifen enthaltenden Erythrozyten im allgemeinen ein anderes Bild; ihre Polychromasie ist nicht mehr so ausgesprochen, einzelne solcher Erythrozyten können reinen Eosinton angenommen haben; die Reifen sind seltener geworden, besonders die vorher am meisten auffallenden mit glattem Kontur und leuchtend roter Farbe. Wo solche noch vorhanden sind, lassen die zugehörigen Blutkörperchen oft den beginnenden Zerfall erkennen (blasse Färbung, unregelmäfsig geformter Rand). Relativ häufiger als zur Zeit der höchsten Anämie sind dünnere Reifen von mehr grauroter Farbe; ein grofsen Teil der Reifen weist aber deutliche Zeichen einer körnigen Degeneration auf. Auf diese wichtige Erscheinung komme ich später noch zurück.

Von einem der Meerschweinchen besitze ich ein Präparat aus der Zeit vor der Infektion. Bei genauem Durchsuchen liefsen sich auch in diesem äufserst spärliche Reifen auffinden. Das beweist also ihr Vorkommen im normalen Meerschweinchenblut.

Reifen in zerfallenden Blutkörperchen habe ich auch im Blut anderer anämischer Meerschweinchen gesehen; diese Reifen sind

nicht immer mehr ganz so scharf konturiert. Derartige Formen trifft man aber ebenfalls im menschlichen Blut bei verschiedenartigen Anämien gar nicht so selten; besonders gut erhaltene Reifen habe ich in rein blau gefärbten polychromatischen Erythrozyten eines Schwarzwasserfieberkranken gesehen; auch im Blut von anämischen Mäusen habe ich sie jetzt gefunden. Wahrscheinlich ist daher das Vorkommen der Reifen bei Anämien in der gesamten Säugetierwelt weit verbreitet. Sind die zugehörigen Blutkörperchen vollkommen zerfallen, die Reifen also frei, so wird ihre Feststellung oft schwierig; sie behalten dann nicht immer mehr die Reifenform, sondern legen sich oft als gewelltes Band aneinander. Unter diesen Umständen kann man Verwechslungen mit Gerinnseln, Rändern von Vakuolen etc. nur ausschliefsen, wenn das fragliche Gebilde deutlich erkennbare, glatte Konturen zeigt und einen zweifellos in sich geschlossenen Faden darstellt.

Das Schicksal des Reifens scheint mir deshalb mit der Lebensfähigkeit des Blutkörperchens eng verknüpft zu sein; im absterbenden Blutkörperchen bleibt der Reifen verhältnismäfsig gut erhalten, im lebensfähigen zeigt er bald Degenerationserscheinungen.

Sehr häufig sind die auch schon in der früheren Arbeit erwähnten punktförmigen Verdickungen an einer, seltener an zwei Stellen des Reifens anzutreffen. Bisweilen besteht die Verdickung aus zwei aneinandergelagerten Punkten, die sich wegen ihrer Gröfse aber deutlich vom Zentrosomen unterscheiden. Man findet sie auch im degenerierten Reifen unverändert in Gröfse, Form und Farbe.

Einige besondere Formen des Reifens mögen hier noch erwähnt werden: Im Gegensatz zu den grofsen Reifen, die noch als Randreifen bezeichnet werden und in Megalozyten einen Durchmesser von 10 μ aufweisen können, gibt es wohlerhaltene Reifen mit einem Durchmesser von noch nicht 3 μ.

Nicht ganz selten kommt es vor, dafs sich im Verlauf des Reifens ein Teil desselben abzweigt, um sich erst später wieder mit ihm zu vereinigen. Diese Bilder erinnern sehr an die Auflockerung des Reifens im Salamanderblut, wie Meves sie mit

seiner Methode erzeugt. In einem einzigen Erythrozyten habe ich zwei vollständig voneinander getrennte, ganz verschieden grofse und verschieden dicke, nicht konzentrische Reifen beobachten können; bei diesen Ungleichheiten läfst ein solcher Befund keinen Schlufs auf einen etwaigen Aufbau des Reifens aus mehreren parallel verlaufenden, dünneren Fäden zu; denn solange wir nichts Genaueres über die Genese wissen, mufs damit gerechnet werden, dafs von Anfang an ausnahmsweise zwei Reifen vorhanden gewesen sein können. Es kommt auch vor, dafs der Reifen unvollständig ist, dafs z. B. nur ein halbkreisförmiges Stück vorhanden ist; bei solchen Befunden ist jedoch stets an ein Zerreifsen des ursprünglich vollständigen Reifens zu denken.

Von allgemeinerem Interesse ist vor allem das Schicksal des Reifens bei der Degeneration. Diese steht nämlich mit der Entstehung der basophilen Körnung des Erythrozyten in engstem Zusammenhang.

Die Degenerationserscheinungen beginnen damit, dafs der Reifen teilweise oder im ganzen Verlauf wie angenagt aussieht; das zugehörige Blutkörperchen zeigt basophile Körnung, die im allgemeinen aufserhalb des Reifens stärker ausgeprägt ist als innerhalb, dort sogar ganz vermifst werden kann. Ich bemerke dazu, dafs sie oft auch bei anscheinend ganz intaktem Reifen beobachtet wird. Bei weiterem Zerfall entsteht das Bild kreisförmig eng aneinandergereihter Körnchen. Diese werden allmählich spärlicher, so dafs zwischen den benachbarten deutliche Zwischenräume sichtbar werden. Nun schlägt die Farbenaffinität um, bisweilen zunächst nur in einem Bezirk, die kreisförmig angeordneten Körnchen nehmen nicht mehr das Chromatinrot, sondern die blaue Farbe an und sind nur noch durch ihre Lage zueinander von der sie umgebenden basophilen Körnung zu unterscheiden. Schliefslich wird auch die kreisförmige Anordnung undeutlich.

In neuerer Zeit ist auch Weidenreich eine kranzartige Lagerung der Granula bei reichlicher basophiler Körnung in manchen Meerschweinchenerythrozyten aufgefallen. Dasselbe Bild erhielt er bei Vitalfärbung; besonders interessant ist aber,

dafs die bei dieser Methode gequollenen Erythrozyten an der Stelle des Körnchenkranzes eine deutliche Einschnürung zeigten, aus der ich auf das Vorhandensein eines wenn auch im Präparat nicht sichtbaren Reifens schliefsen möchte. Demnach scheint die eben geschilderte Genese der basophilen Körnung, wenn überhaupt andere Entstehungsarten in Frage kommen sollten, jedenfalls keine seltene zu sein.

Hervorheben möchte ich noch die sich aus der basophilen Körnung ergebende Tatsache, dafs Zerfallprodukte von Gebilden, die bei Giemsafärbung das Chromatinrot intensiv annahmen, sich blau färben können, dafs also ein derartiges Verhalten irgendwelcher Körnchen nicht zu dem Schlufs berechtigt, Kernderivate auszuschliefsen.

Der Umstand, dafs völlig intakte Reifen im Meerschweinchenblutkörperchen häufig einen viel zu geringen Durchmesser zeigen, um als Randreifen in Betracht zu kommen, hat mich veranlafst, diesen Namen zu vermeiden. Ich schlage vielmehr vor, sie nach ihrem Entdecker als Dehlersche Reifen zu bezeichnen, solange ihre Bedeutung noch nicht erkannt ist. Zur Erforschung derselben wäre es meines Erachtens nötig, genauer die Beziehungen zur Mitose zu studieren, auf die schon Dehler aufmerksam gemacht hat. Aufserdem weist aber die intensive Affinität zu verhältnismäfsig zuverlässigen Kernfarbstoffen, wie Eisenhämatoxilin und Romanowskysches Chromatinrot, auch auf eine Untersuchung der Frage hin, ob die Dehlerschen Reifen selbst aus Kernsubstanz hervorgehen. Gegen diese Genese würden die Untersuchungen von Grawitz und Grüneberg nicht ohne weiteres sprechen, die nachgewiesen haben, dafs im ultravioletten Licht die basophile Körnung im Gegensatz zu Kernsubstanz unsichtbar wird; denn es wäre sehr wohl möglich, dafs mit der oben geschilderten Veränderung der Farbenaffinität des degenerierenden Reifens auch eine Veränderung des optischen Verhaltens verbunden ist.

Literatur.

1. Argutinski, Malariastudien. Arch. f. mikrosk. Anatomie, 1902, Bd. 61.
2. Dehler, Beitrag zur Kenntnis des feineren Baues der roten Blutkörperchen beim Hühnerembryo. Archiv f. mikroskop. Anat., 1895, Bd. 46.
3. Grawitz und Grüneberg, Projektionsbilder von mikrophotographischen Aufnahmen menschlicher Blutzellen mittels ultravioletter Lichtstrahlen. Berliner klin. Wochenschr., 1906.
4. Meves, Zur Struktur der roten Blutkörperchen bei Amphibien und Säugetieren. Anat. Anz., Bd. 23.
5. —, Die Hünefeld-Hensenschen Bilder der roten Blutkörperchen der Amphibien. Anat. Anz., Bd. 24.
6. —, Über das Auftreten von Deformationen des Randreifens bei den roten Blutkörperchen des Salamanders. Anat. Anz., Bd. 25.
7. —, Weitere Beobachtungen über den feineren Bau des Randreifens in den roten Blutkörperchen des Salamanders. Anatom. Anz., Bd. 25, Ergänzungsheft.
8. —, Über die Wirkung von Ammoniakdämpfen auf die roten Blutkörperchen von Amphibien. Anat. Anz., Bd. 27.
9. Nifsle, Beobachtungen am Blut mit Trypanosomen geimpfter Tiere. Arch. f. Hygiene, 1905, Bd. 53.
10. A. Plehn, Weiteres über Malariaimmunität und Latenzperiode. Jena 1901.
11. Ruzicka, Zytologische Untersuchungen über die roten Blutkörperchen. Archiv f. mikroskop. Anatomie, 1906, Bd. 67.
12. Weidenreich, Die roten Blutkörperchen. Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte, 1904, Bd. 14.
13. —, Einige Bemerkungen über die roten Blutkörperchen. Anatom. Anz., Bd. 27.
14. —, Neue und alte Beobachtungen an roten Blutkörperchen der Säuger. Vorl. Mitteilung. Fol. hämat., Jg. 3, 1906.
15. —, Studien über das Blut und die blutbildenden und -zerstörenden Organe. IV. Arch. f. mikroskop. Anatomie, Bd. 69, 1906.

Über die Verbreitung von Infektionsstoffen.

Von

Stabsarzt Dr. **Berghaus,**

Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Ist es im Laufe der Jahre der bakteriologischen Forschung auch gelungen, uns in das Wesen der Infektion Einblick zu verschaffen, ist uns auch bekannt, welcher Art die Krankheitserreger sind und inwieweit Persönlichkeiten als Infektionsstoffträger in Betracht kommen, so mufs unser Wissen hinsichtlich der Art und Weise, in der die Verbreitung des Infektionsstoffes tatsächlich unter den Verhältnissen des praktischen Lebens stattfinden kann, noch recht unvollständig bezeichnet werden. Denn aufserordentlich häufig treten uns in der Praxis Fälle entgegen, in denen die Ansteckungsquelle verborgen bleibt oder, falls eine solche vorhanden, ein Zusammenhang mit derselben sich nicht nachweisen läfst. Worin liegt das begründet? Sind es völlig unbekannte Verhältnisse, die einer Weiterverbreitung Vorschub leisten, oder kann der Grund darin gefunden werden, dafs die bekannten Infektionsmodi in ihrer Bedeutung nicht genügend gekannt und gewürdigt sind? Erstere Möglichkeit darf nur in Betracht gezogen werden, wenn eingehende Prüfung der letzteren keine weitere Aufklärung zu geben vermag; volle Klarheit wird in diese Frage nur eine systematische Untersuchung bringen können, die keinen noch so geringfügig scheinenden Umstand aufser acht läfst.

Wenn nun von einer Übertragung durch Vermittelung eines Zwischenwirtes, z. B. stechender Insekten absieht, so mufs die Verbreitung der Infektionserreger in engem Zusammenhange mit dem kranken Körper stehen und abhängig sein von dem Verbleib der Auswurfstoffe, die die Keime beherbergen. Ob alle aus dem Körper austretenden Infektionsstoffe sofort Infektionen auslösen können, ist zurzeit weder bewiesen, noch überhaupt eingehend geprüft, aber wir dürfen doch mit grofser Wahrscheinlichkeit für recht viele Infektionsstoffe annehmen, dafs sie mit dem Augenblick, in dem sie den kranken, oder besser gesagt, den infizierten Körper verlassen, imstande sind, eine weitere Ansteckung hervorzurufen. Wie aber auch die obige Streitfrage einmal entschieden werden mag, jedenfalls liegt in der Beseitigung der Infektionsstoffe zugleich die wichtigste und zurzeit wenigstens bedeutungsvollste Bekämpfungsmafsregel dieser Krankheiten.

Die Untersuchung, in welcher Weise eine Verstreuung der Keime vermittelst der Sekrete und Exkrete des menschlichen Körpers möglich ist, mufs daher mit dem Akt ihrer Ausscheidung beginnen. In erster Linie bedürfte es der exakten Prüfung, ob die Masse der Stoffe, die ja zwecks ihrer Beseitigung in der Regel aufgefangen wird und auch einer Messung eventuell zugängig ist, der tatsächlich ausgeschiedenen entspricht, oder ob bereits während des Vorgangs der Entfernung aus dem Körper, durch ihn selbst bedingt, die Möglichkeit gegeben sein kann, dafs kleine und kleinste Partikelchen in die Umgebung verstreut werden, die der Beobachtung im allgemeinen entgehen, die aber trotz ihrer Geringfügigkeit Keime in sich enthalten können. Gerade bei einer Verschmutzung, die einer grobsinnlichen Wahrnehmung sich entzieht, wird mit der Möglichkeit einer weiteren Übertragung in höherem Mafse zu rechnen sein, als wenn es sich um relativ grofse Massen handelt. Letztere lassen sich durch entsprechende Desinfektionsmafsregeln in jedem Fall unschädlich machen, diese jedoch werden der Desinfektion entzogen, wie sie der Wahrnehmung entgangen sind.

Die physiologischen Vorgänge, durch die der menschliche Körper sich seiner Auswurfstoffe zu entledigen sucht, sind vornehmlich der Akt des Hustens, Niesens und Räusperns, ferner des Urinierens und der Defäkation. Können nun durch diese Vorgänge Teilchen der Auswurfstoffe losgerissen und in die Umgebung verstreut werden und damit zu einer Verschmutzung Veranlassung geben?

Der Erste, der der Forschung hier einen sehr wertvollen Fingerzeig gegeben hat, war der Botaniker Nägeli[1]), welcher dem früher geltenden Dogma, dafs Krankheitsstoffe sich aus Flüssigkeiten beim Verdunsten erheben und weiter verschleppt werden können, scharf entgegengetreten ist und mit rein physikalischen Gründen die Unmöglichkeit eines solchen Vorganges erwiesen hat. Nägeli hat auch die ersten Beweise experimenteller Natur erbracht, dafs aus ruhenden Flüssigkeiten Bakterien sich nicht loslösen: wie er zuerst richtig ausgesprochen hat, können nur dann Loslösungen eintreten, wenn eine äufsere mechanische Gewalt — Windstrom — eine Zerstäubung der Flüssigkeit herbeiführt, oder wenn etwa durch das Platzen von Flüssigkeitslamellen beim Husten, Sprechen die Auflösung in Tröpfchen eingetreten ist.

Jahrzehnte nach diesen Beobachtungen hat man dann von hygienischer Seite die Verspräyung näher experimentell verfolgt. Die Vorgänge beim Sprechen, Husten sind in ihrer elementaren Form der Zerstäubung flüssigen Materials allgemein bekannt.

Flügge und sein Schüler haben genaue Zahlen über die Art und Gröfse dieser Tröpfchenloslösung bei Husten und Sprechen angegeben. Die Möglichkeit der Verbreitung von Infektionsstoffen auf diesem Wege ist zweifellos festgestellt, und auch durch anderweitige Untersuchungen festgelegt, dafs sich diese zerstäubten Massen recht lange in der Luft halten und weiterhin verschleppt werden können.

Neben Staub kommt also diese zweite Form der Keimübertragung von seiten der Luft mit in Betracht, es sind aber auch hier wieder eine ganze Reihe von Fragen zweifellos noch zu lösen.

---

[1]) Nägeli, Die niederen Pilze, München 1877.

Es gibt offenbar aufser Sprechen, Niesen usw. auch andere Akte im Leben, welche zu einer unbeabsichtigten Verschleppung und Ausstreuung von Keimen beitragen können.

Über die Möglichkeit einer Verstreuung von Krankheitskeimen durch den Akt des Urinierens und der Defäkation liegen meines Wissens systematische Untersuchungen nicht vor. Wohl findet sich in der Literatur die Angabe, dafs bei dem Urinieren an die Bildung feinster Tröpfchen gedacht werden müsse, die eventl. eine Infektion verursachen könnten. Mit der Tatsache, dafs Aborte und Bedürfnisanstalten Veranlassung zu Infektionen geben könnten, ist zwar schon seit langem gerechnet worden, und nichts liegt auch näher als dieses. Ist doch schon ohne weiteres oft die grobe Verschmutzung dieser Orte sichtbar.

Auf die Bedeutung, die öffentlichen Bedürfnisanstalten hinsichtlich einer Verschleppung von Typhusbazillen zukommen könnte, suchte auf Anregung des Herrn Geheimrats Rubner W. Hoffmann[1]) die Aufmerksamkeit zu lenken. Zwar gelang es ihm nicht, in dem untersuchten Urin verschiedener Bedürfnisanstalten Berlins trotz einer grofsen Zahl von Untersuchungen die gesuchten Typhusbazillen nachzuweisen, zweimal jedoch vermochte er Bakterienarten zu isolieren, die sowohl kulturell dem Bac. paratyphus Typus B Schottmüller glichen, als auch durch spezifisches Serum in hohen Verdünnungen noch agglutiniert wurden.

Neuerdings wurden im hiesigen Institut von G. Neumann[2]) Untersuchungen angestellt, über den Umfang der Verunreinigung der Umgebung des Menschen mit tierischen und menschlichen Exkrementen, indem zu ihrem Nachweis des Bact. coli als Indikator herangezogen wurde. Mit verhältnismäfsig wenigen Ausnahmen gelang es überall dort, diese Bakterienart aufzufinden, »wohin die menschliche Hand gelangt«. Vorzugsweise waren es wiederum die Bedürfnisanstalten, die an den dort befindlichen Gegenständen die fäkale Verunreinigung erkennen liefsen. Neumann glaubt der primitiven Art der Hände-Reinigung nach

[1]) Hygien. Rundschau, 1905, Nr. 7.

[2]) Archiv f. Hygiene, 59. Bd., 2. Heft.

der Defäkation die Schuld an dieser allgemeinen Verschmutzung zuschreiben zu müssen, und ohne Bedenken wird man ihm hierin recht geben müssen für die Fälle, in denen ihm der Nachweis des Bact. coli gelang an Gegenständen, die der direkten Berührung mit der Hand ausgesetzt sind. Aber ist diese Art der Verschleppung fäkaler Substanzen die einzige Möglichkeit, kann sie nicht auch auf eine andere Weise vor sich gehen? Auf Veranlassung meines Chefs, des Herrn Geheimrats Rubner, suchte ich diese Frage durch systematische Untersuchungen zu klären. In den Bereich meiner Versuche mufste ich demnach auch die Prüfung der üblichen Einrichtungen, die der Beseitigung der Exkremente dienten, ziehen.

I. Verstreuung von Keimen beim Urinieren.

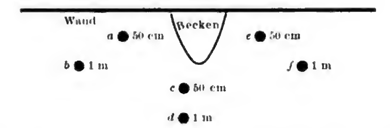
Bekanntlich kommt es ja bei jedem Umgiefsen einer Flüssigkeit in eine andere, bei dem Auftreffen eines Wasserstrahls, ferner wenn Wellenbildung und Verspritzung einer Flüssigkeit eintritt, oder wenn Luftbläschen durch eine Flüssigkeit hindurchtreten, ja schon wenn Blasen, die infolge Gärung entstanden sind, auf der Oberfläche einer Flüssigkeit zerplatzen, zu einer Bildung feinster Tröpfchen, die sich in die Luft erheben und durch ganz minimale Windströmungen weiter transportiert in der Umgebung sich ablagern. Sind schon so geringfügige Einwirkungen hierzu imstande, um wieviel mehr wird dann die Tröpfchenbildung eintreten, wenn der Urin in kräftigem Strahl aus der Harnröhre geprefst und gegen die Wand der Bedürfnisanstalt oder des auffangenden Gefäfses geschleudert wird. Aber auch schon auf dem Wege von der Harnröhre bis zum Auftreffen des Urins müssen Tröpfchen verschleudert werden infolge der Druckverminderung in dem Wasserstrahl und des Widerstandes der Luft. Schon mit dem blofsen Auge kann man stets eine Loslösung gröfserer Tropfen von dem eigentlichen Urinstrahl bemerken.

Um experimentell den Beweis zu erbringen, dafs auch durch den Akt des Urinierens beim Manne eine Verschleuderung von Keimen in ganz erheblichem Mafse stattfindet, suchte

ich den Vorgang der Urinentleerung möglichst getreu nachzuahmen, indem ich in folgender Weise vorging: Aus einer Glasflasche, die als Irrigator montiert wurde, liefs ich aus einer Höhe von ca. 170 cm — die Flasche wurde dem Diener auf den Kopf gestellt — mittels eines ca. 120 cm langen Gummischlauches lauwarmes Wasser gegen die Wand eines Standes in einer Bedürfnisanstalt oder eines Pissoirbeckens etc. laufen, die Mündung des Schlauches wurde unter einem nach unten stumpfen Winkel, ca. 30 cm von der Wand entfernt, gehalten. Zum Nachweis der Tröpfchenbildung versetzte ich das Wasser mit Aufschwemmungen von Prodigiosus-Kulturen; 8 cm-Petrischalen mit Agar oder Gelatine wurden in bestimmten Entfernungen aufgestellt, um eventl. die mit den Tröpfchen verschleuderten Keime aufzufangen; nach 2—3 Tagen wurden diese Platten auf das Vorhandensein von Kolonien dieser Bakterien untersucht und ausgezählt.

Versuch I.

In ein Urinierbecken wurde aus dem Irrigator $^3/_4$ l lauwarmes Wasser mit einer Prodigiosuskultur laufen gelassen, nachdem vorher in der Umgebung Agarplatten in folgender Anordnung aufgestellt waren:



Die Platten ● blieben noch nach dem Auslaufen des Wassers, insgesamt 15 Minuten, offen stehen. Auf der Platte *a* wuchsen zwei Prodigiosuskolonien aus.

Eine Wiederholung dieses Versuchs, bei dem jedoch die Schalen nur 5 Minuten geöffnet waren, ergab auf Platte *a* 2, Platte *e* 21 Kolonien. Während dieses Versuchs wurde die Tür der Toilette zufällig geöffnet, so dafs eine Luftbewegung eintrat, auf die möglicherweise die Anhäufung der Keime bei *e* zurückgeführt werden kann.

Während beider Versuche war die Wasserspülung abgestellt.

Zwei weitere Versuche stellte ich unter denselben Bedingungen an, nur war während derselben die Wasserspülung in Tätigkeit. Bei dem ersten wiesen sich sämtliche Platten frei von Kolonien, bei dem zweiten wurden bei *a* 12, bei *e* 5 gezählt.

Diese Resultate sind verhältnismäfsig günstig, wenn man die der folgenden Versuche in Betracht zieht.

Versuch II.

Die Prodigiosusaufschwemmung wurde in der beschriebenen Weise in das Becken eines Auswaschklosetts (Wash-out-Closet), in dem sich die gewöhnliche Menge des stets zurückbleibenden Spülwassers befand, geleitet, so dafs die Ausflufsmündung des Schlauches sich ca. 40 cm von dem Beckenboden befand.

Resultat:

Agarplatte rechts seitlich auf dem Sitzbrett	55	Prodigiosuskolonien.
» links » » » »	58	»
» 50 cm v. d. Abort auf dem Boden	1	»
» 30 cm links seitlich » » »	7	»
» 30 cm rechts » » » »	21	»

Die Platten blieben nur während des Abfliefsens der Flüssigkeit offen stehen, zwei weitere, die bald (2 Minuten) später auf die Sitzvorrichtung gestellt wurden und dort $^1/_2$ Stunde offen standen, zeigten keine Prodigiosuskolonien mehr.

Weitere Versuche dieser Art führte ich in öffentlichen Bedürfnisanstalten aus, die mir zu diesem Zweck in entgegenkommender Weise von dem Direktor des Berliner Strafsenreinigungswesens, Herrn Baurat Szalla, zur Verfügung gestellt wurden, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte.

Die Wandungen der einzelnen Stände bestehen aus Schieferplatten, die mit Öl abgerieben werden, eine Wasserspülung ist nicht vorhanden. Der Übersichtlichkeit halber gebe ich hier Skizzen der betreffenden Anstalten wieder.

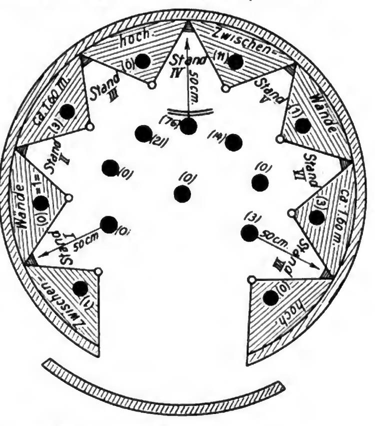
Versuch III. Grundrifs eines Pissoirs mit 7 Ständen (Rotunde).

1 l lauwarmes Wasser mit einer 24stündigen Prodigiosus-Agarkulturaufschwemmung wird gegen die Wandungen des Standes IV mittels eines Irrigators aus 1,60 m Höhe laufen gelassen; Ausflufsöffnung ca. 20 cm von der Wand u. 40 cm vom Fufsboden entfernt.

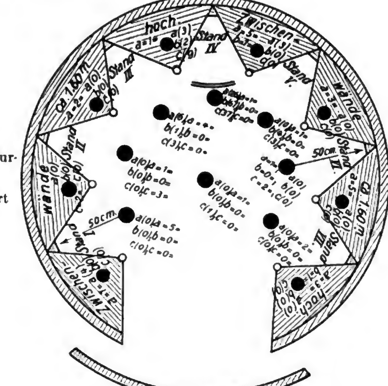
16 ● Agarplatten wurden 15 Min. exponiert, dann diese mit frischen ausgewechselt, die ebenfalls 15 Minuten stehen blieben.

Die ()-Zahlen geben die Zahl der Kolonien an, die vor dem Wechsel gezählt wurden.

Die = =-Zahlen geben die Zahl der Kolonien an, die nach dem Wechsel gezählt wurden.



Wiederholung des vorherigen Versuchs.

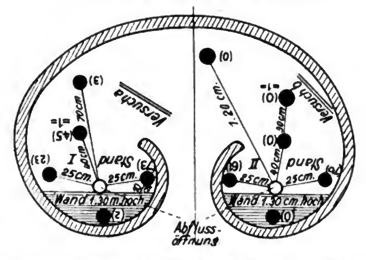


Die Agarplatten wurden jedesmal

a) 15 Min. exponiert
b) 10 » »
c) 10 » »

Versuch IV.

Grundrifs eines Pissoirs mit 2 Ständen.



Die Versuchsanordnung entspricht im allgemeinen der früheren, zwischen beiden (*a* und *b*) Versuchen liegt ein Zeitraum von 24 Stunden.

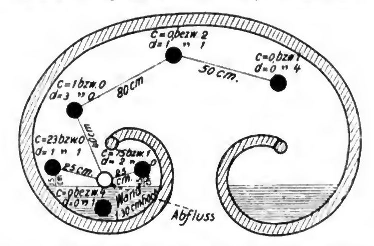
a) 5 Agarplatten wurden 15 Minuten exponiert, alsdann diese mit frischen ausgetauscht, die dann nach 5 Minuten stehen blieben.

b) 6 Agarplatten werden 5 Minuten exponiert, dann Wechsel.

( )-Zahlen geben die Zahl der Kolonien vor dem Wechsel an.

= =-Zahlen geben die Zahl der Kolonien nach dem Wechsel an.

Wiederholung der beiden vorherigen Versuche.



Versuch *c*: 6 Agarplatten standen während des Ausfliefsens des Wassers und daran anschliefsend insgesamt 20 Minuten offen, wurden dann mit neuen Platten ausgewechselt, die ebensolange exponiert wurden.

Versuch *d*: Nachdem n a c h dem Ausfliefsen des Wassers 30 Minuten verflossen waren, wurden 6 Agarplatten 10 Minuten exponiert und nach weiteren 30 Minuten nochmals.

Die Zahlen *c* bzw. *d* geben die Anzahl der gewachsenen Kolonien auf den Platten vor bzw. nach jedem Wechsel an.

II. Verstreuung von Keimen bei der Defäkation.

In erster Linie suchte ich festzustellen, ob durch den Akt des Austreibens der Fäzes keimhaltige Partikelchen in die Luft geschleudert werden könnten, weiterhin prüfte ich die üblichen Aborteinrichtungen, ob etwa die Spülung imstande sei, eine Ablösung von Keimen herbeizuführen. Meine Versuche führte ich auf mehreren Aborten aus, die zwei verschiedene Systeme aufwiesen, auf den sog. Auswaschklosetts (Wash-out-Closet) und den Trichterklosetts. Erstere, welche heutzutage weit verbreitet, in Berlin in fast sämtlichen neueren Häusern vorhanden sind, haben bekanntlich einen ausgebuchteten Beckenboden, in dem stets ein wenig reines Spülwasser zurückbleibt, welches bei der nächsten Defäkation das Anhaften des Kots an der Wand verhindern und die Kotgase absorbieren soll. Durch die Spülung, welche von einem hochstehenden, ca. 8—10 l fassenden Spülbehälter aus erfolgt, wird das ganze Becken und vorzugsweise der Beckenboden mit den Exkrementen von hinten nach vorn ausgewaschen. Die zweite Klosettart besteht aus einem Aborttrichter, der mittels Siphon mit dem Fallrohr in Verbindung steht. Die Spülung ist eine Rundspülung, d. h. der Wasserstrahl ergiefst sich in zirkulären Windungen längs der Wandung des Trichters direkt aus der Wasserleitung ohne Zwischenschaltung eines besondern Behälters in den Siphon und reifst die an den Wandungen hängenden Schmutzteilchen mit sich.

Eine Ablösung von Partikelchen von den Fäzes während der Defäkation ist in zwei Formen denkbar. Ist der Stuhl geformt, also verhältnismäfsig wasserarm, so kann nur eine Abtrennung von festen Bestandteilen in Betracht kommen, bei der Entleerung eines wasserreichen diarrhöigen Kotes kommt es dagegen stets zu einer Verspritzung und infolgedessen auch zu einer Tröpfchenbildung. Je nach dem Druck, unter dem die Entleerung vor sich geht, wird die Verschleuderung der feinsten Tröpfchen eine mehr minder grofse sein. Eine Verspritzung des Kots würde an und für sich nun wenig von Belang sein, wenn nur die Wandungen des Abortbeckens davon betroffen würden. Diese werden ja

später durch die Spülung wieder von dem anhaftenden Schmutz gesäubert. Die Verschmutzung geht aber weiter, wie ich durch meine Versuche beweisen konnte. Die keimhaltigen Tröpfchen vermögen aus der Höhlung des Abortbeckens heraus in die Höhe zu steigen und senken sich in der Umgebung des Aborts wieder zur Erde nieder.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, dafs während des Aktes der Defäkation hinter der betreffenden Person auf der Rundung des Sitzbrettes nahe der Öffnung zwei Lackmus-Nutrose-Agarplatten offen exponiert wurden, um etwaige Kolibakterien aufzufangen. Zwischen dem Rücken der Person und dem hinteren Rande des Sitzbrettes blieb eine halbmondförmige Öffnung bestehen. Sofort nach der Defäkation wurden die Agarplatten geschlossen und 24 Stunden der Bruttemperatur ausgesetzt.

Mehrere Versuche, bei denen es sich um Entleerung eines festen Kotes handelte, verliefen resultatlos, d. h. auf den Agarplatten kamen keine Kolikolonien zur Entwicklung. Als aber bei der betreffenden Person durch Abführmittel künstlich eine Diarrhöe erzeugt worden war, gelang es, unter vier Versuchen einmal die Kolibakterien auf den Platten nachzuweisen und zwar waren es drei Kolonien, die auf der einen der zwei ausgestellten Platten sich entwickelten. Obschon die Kolonien auf dem Lackmus-Nutrose-Agar das den Kolibazillus charakterisierende Wachstum aufwiesen, habe ich doch, um sicher zu gehen, ihre Identifizierung nach den üblichen Methoden vorgenommen. Wenn es nach diesem Resultat sicher ist, dafs aus dem Abortbecken Keime in die Luft versprüht werden, so leuchtet ohne weiteres ein, dafs die auf dem Abort sitzende Person erst recht in hohem Mafse einer Verschmutzung ausgesetzt sein mufs, indem die aufgewirbelten Keime sich an ihrem entblöfsten Körperteil absetzen, von dem aus weiter die Kleidung infiziert wird.

Die zweite Frage, ob etwa durch die Spülung Partikel aus dem Abortbecken losgerissen und in die Luft geschleudert werden könnten, prüfte ich in folgenden Versuchen:

1. In die leere, d. h. ausgewaschene Schüssel eines Auswaschklosetts, in der sich nur die gewöhnliche Menge des stets zurückbleibenden Spülwassers befand, wurde vorsichtig eine Aufschwemmung einer ganzen 24stündigen Prodigiosuskultur gegossen, diese dann durch Spülung entfernt.

Auf 4 Agarplatten, die in 30—40 cm Entfernung vom Abort auf dem Boden $^1/_2$ Stunde im Anschlufs an die Spülung offen gestanden hatten, wurden 28 Prodigiosuskolonien gezählt.

2. Wiederholung von 1.

Resultat:

Agarplatte	links seitlich auf dem Sitzbrett	41	Prodigiosuskolonien
»	rechts » » » »	10	»
»	vorn » » »	34	»
»	30 cm links seitlich auf dem Boden	0	»
»	30 cm rechts » » » »	3	»
»	50 cm vor dem Abort » » »	1	»

3. Auf die in der Abortschüssel desselben Klosetts liegenden geformten (festen) Fäzes wurde vorsichtig unter Vermeidung jeglichen Aufspritzens eine Aufschwemmung einer 24stündigen Prodigiosusagarkultur gegeben, durch die Spülvorrichtung alsdann die gesamte Masse entfernt. Die während 5 Minuten geöffneten Platten zeigten folgendes Ergebnis:

Agarplatte	links seitlich auf dem Sitzrand	22	Prodigiosuskolonien
»	rechts » » » »	5	»
»	vorn » » »	48	»
»	links 30 cm vom Abort auf dem Boden	0	»
»	rechts 30 cm » » » » »	1	»
»	vorn 60 cm » » » » »	0	»

4. Wiederholung von 3. Die Platten bleiben nur während der Spülung und im Anschlufs daran noch ca. 1 Minute offen stehen.

Agarplatte	vorn auf dem Sitzbrett	54	Prodigiosuskolonien
»	links seitlich auf dem Sitzbrett	15	»
»	» 30 cm entfernt auf dem Boden	0	»
2 Agarplatten	ca. 75 cm » » » »	1	»

Vor jedem Versuch wurde durch Kontrollplatten geprüft, ob etwa Prodigiosuskeime an und für sich schon in der Luft vorhanden seien.

Bei der Prüfung der Trichterklosetts wurde in ähnlicher Weise verfahren. Nach der Defäkation wurden an die Wandungen des Trichters — die Kotmassen waren bereits direkt in die Abfallrohre gefallen — die Aufschwemmungen 24stündiger Prodigiosuskulturen gegossen, dann durch Druck auf einen Knopf die Spülvorrichtung in Tätigkeit gesetzt.

1. Spülung dauert 3 Minuten:

Auf 3 Agarplatten, die während der Spülung offen standen, entwickelten sich **keine** Prodigiosuskolonien.

2. Dauer der Spülung 1 Minute:

Auf 1 Agarplatte 1 Kolonie, auf 2 keine.

3. Dauer der Spülung 5 Minuten:

Agarplatte	vorn auf dem Sitzbrett	1	Prodigiosuskolonie
»	links » » »	0	»
»	rechts » » »	1	»

4. Dauer der Spülung 5 Minuten:

Agarplatte	vorn auf dem Sitzbrett	2	Prodigiosuskolonien
»	rechts » » »	2	»
»	links » » »	2	»

Auch ohne Zuhilfenahme von Prodigiosusaufschwemmungen konnte die Verspritzung des Abortbeckeninhaltes durch die Spülung durch den direkten Nachweis von Kolibakterien festgestellt werden.

In meinen Versuchen über die Verschleuderung von Kotteilchen durch den Akt der Defäkation gelang es mir, wie ich oben bereits anführte, Kolibakterien nur dann auf den Platten aufzufangen, wenn es sich um diarrhöigen Stuhl handelte. Eine **erheblich gröfsere Verschmutzung konnte konstatiert werden, wenn behufs Entfernung der Kotmassen aus dem Becken die Spülvorrichtung in Tätigkeit gesetzt wurde.** Durch sie wurden nicht nur von den dünnflüssigen, sondern auch von den festen Kotmassen Darmbakterien abgelöst und in die Luft gesprengt, allerdings von den ersteren mehr als von den letzteren. Die Ablösung der Keime von diesen mufs zum Teil auch wohl darauf zurückgeführt werden, dafs durch das Liegen im Spülwasser eine mehr oder minder grofse Zerbröckelung der festen Massen eintritt.

Die Versuchsanordnung war folgendermafsen:

Nach der Defäkation, während noch der Kot sich in der Abortschüssel befand, wurden zum Nachweis etwa verspritzender Kolibakterien auf das Sitzbrett oder in der Umgebung des Abortes Lackmus-Nutrose-Agarplatten aufgestellt, dann die Spülung vorgenommen. Die Platten blieben 10 Minuten offen stehen und wurden dann in den Brutschrank gestellt.

1. Stuhl war geformt.

Agarplatte vorn auf dem Sitzbrett	7	Kolikolonien
» links seitlich auf dem Sitzbrett	0	»
» rechts » » » »	0	»

2. Stuhl war geformt.

Agarplatte vorn auf dem Sitzbrett	2	Kolikolonien
» links seitlich auf dem Sitzbrett	3	»
» rechts » » » »	0	»

3. Stuhl war geformt.

Agarplatte vorn auf dem Sitzbrett	1	Kolikolonie
» links seitlich auf dem Sitzbrett	0	»
» rechts » » » »	2	»

4. Stuhl war geformt.

Agarplatte vorn auf dem Sitzbrett	0	Kolikolonien
» links seitlich auf dem Sitzbrett	5	»
» rechts » » » »	0	»

5. Stuhl war dünnflüssig.

Agarplatte vorn auf dem Sitzbrett	27	Kolikolonien
» rechts seitlich auf dem Sitzbrett	4	»
» links » » » »	0	»
» 30 cm vor dem Abort auf dem Boden	8	»

6. Stuhl war dünnflüssig.

Agarplatte vorn auf dem Sitzbrett	26	Kolikolonien
» links seitlich auf dem Sitzbrett	4	»

7. Stuhl war dünnflüssig.

5 Kolikolonien auf 3 Agarplatten.

8. Stuhl war geformt.

Auf 5 sternförmig in ca. 30 cm Entfernung vom Abort auf dem Boden stehenden Platten wuchsen keine Kolikolonien aus.

Mit Ausnahme der Kolonien des ersten Versuchs wurden sämtliche übrigen durch die bekannten Methoden als Kolikolonien identifiziert, das Wachstum der ersteren entsprach jedoch in jeder Beziehung dem wirklicher Kolikolonien, so dafs sie wohl als solche angesehen werden dürfen.

In derselben Weise führte ich auf Trichterklosetts Versuche aus, aber mit dem abweichenden Resultat, dafs auf den exponierten Platten niemals Kolikolonien zur Entwicklung kamen.

Die Bedeutung meiner Versuche liegt klar auf der Hand, so dafs eine Erläuterung kaum notwendig erscheint. Setzt man an die Stelle der Prodigiosuskeime oder des Bact. coli, die als Indikator der Verunreinigung dienten, die infektiösen Bakterien, die beim Urinieren oder der Defäkation zur Ausscheidung kommen können, so leuchtet ohne weiteres ein, dafs Infektionen in Bedürfnisanstalten wohl nicht zu den Seltenheiten zu rechnen sind. Ein Typhusrekonvaleszent, der bekanntermafsen lange Zeit hindurch Typhusbazillen mit dem Urin entleeren kann, wird gegebenenfalls bei jeder Urinentleerung, mag sie nun in das Becken eines Abortes oder gegen die Wand einer Bedürfnisanstalt oder auch in das Nachtgeschirr erfolgen, in weitem Umfange seine Krankheitskeime verstreuen. In erster Linie wird er sich selbst infizieren. Die feinen keimhaltigen Tröpfchen werden sich auf seine vielleicht kurz vorher peinlichst desinfizierte Kleidung, auf den Händen und im Gesicht absetzen und auf diesen in die Wohnräume, an den Tisch und weiter in die Aufsenwelt getragen. Aber auch die Umgebung wird bei jeder Urinentleerung mit einem Sprühregen feinster Tröpfchen überschüttet. Personen, die gleichzeitig mit dem Typhusrekonvaleszenten sich in der Bedürfnisanstalt befinden und auch solche, die längere Zeit nach ihm die Anstalt betreten, werden die Fangschirme der verschleuderten Bakterien sein.

Die Beobachtung, dafs allein schon durch den Akt der Defäkation Kotbakterien verschleudert werden können, beweist, dafs die bisherige Annahme, dafs die Verschmutzung auf den Aborten nur auf die mangelhafte Reinlichkeit des Menschen zurückzuführen ist, nicht zutreffend ist, es kommen hierbei mehrere Umstände in Betracht, wie unten noch weiter ausgeführt werden wird. Praktisch von Wichtigkeit ist diese Tatsache insofern, als sie bei der Einrichtung von Latrinen Beachtung verdient. Jeder Sitz in einer Latrine, speziell kommen hier die Notlatrinen in Betracht, sollte durch seitliche Bretterwände von den neben ihm befindlichen getrennt sein, damit, wenn infektiöse Massen auf dem einen entleert werden, diese nicht auch auf die

anderen verschleudert werden und so zu weiteren Infektionen Veranlassung geben.

Aber noch über ein Weiteres haben meine Untersuchungen Klarheit gebracht. Sie zeigten, dafs die Art und Weise, in der die Beseitigung der Auswurfstoffe stattfindet, auf die Gröfse der Verschmutzung von erheblichem Einflufs ist, ja, dafs durch die üblichen Einrichtungen keimhaltige Partikel direkt verstreut werden, sie also die Gefahr einer Weiterverbreitung von Krankheitskeimen nicht nur nicht vermindern, sondern diese, die ohne sie nur gering war, geradezu erhöhen.

Die weitgehende Verstreuung von Keimen in den öffentlichen Pissoirs, wie sie meine Versuche zeigen, ist meines Erachtens von mehreren Gründen abhängig. In erster Linie wird der weite Weg, den die Versuchsflüssjgkeit von der Mündung des Irrigatorschlauches bis zum Ablauf in den Ölsiphon zurücklegen mufste, haftbar gemacht werden müssen. Aber auch bei der Urinentleerung finden sich dieselben Verhältnisse. Der Urinierende mufs aus nicht geringer Entfernung, falls er sich an den den Stand seitlich abschliefsenden Wänden nicht beschmutzen will, den Harnstrahl gegen die ableitende Wand richten, der Länge des zurückzulegenden Weges ist aber die Tröpfchenbildung direkt proportional. Durch den Anprall des Wasserstrahls an die Wand werden unzweifelhaft die meisten Tröpfchen bedingt, weiterhin läfst aber auch die Wand selbst, an der der Urin hinabfliefst, eine Ablösung von Tröpfchen zu. An den Schieferwänden bilden sich infolge ihrer Durchtränkung mit Öl Tropfen verschiedener Gröfse, die der Wandung nur lose anliegen und an ihr hinunterrollen. Das Öl verhindert, dafs eine innigere Berührung der Flüssigkeit mit den Wandungen zustande kommt und an ihnen hinuntergleitet, wie es bei flachen Wänden ohne Olbenetzung der Fall ist. Während des Hinabrollens der Tropfen ist eine weitere Abtrennung feinster Tröpfchen wohl denkbar.

Günstiger gestalten sich die Verhältnisse bei den Pissoirbecken, wo der Weg, den der Urin bis zur geschlossenen Leitung

zurücklegen mufs, bedeutend kürzer ist. Die Keimverbreitung ging in meinen Versuchen nicht über 50 cm nach der Seite hin. Die Tatsache, dafs die in 50 cm vor dem Becken aufgestellten Platten keimfrei blieben, ist darauf zurückzuführen, dafs die Person, die den Wasserstrahl in das Becken leitete, mit ihrem Körper diese Platten deckte. Aber noch ein anderer Umstand scheint die Verspritzung zu verhindern. Es sind das die Wulste, die die Becken längs der Öffnung oben umgeben. Diese müssen m. E. den Hauptstrom der Tröpfchen abfangen. Wenig von Einflufs auf die Keimverstreuung dürfte der Umstand sein, ob während des Urinierens die Wasserspülung in Tätigkeit ist oder nicht. Wenn auch einmal bei Anwendung der Spülung keine Prodigiosus-Kolonien auf den Platten sich entwickelten, so belehrt der zweite Versuch eines Besseren.

Ganz erhebliche Mengen Prodigiosus-Keime wurden verschleudert, wenn der Wasserstrahl in das Becken eines Auswaschklosetts geleitet wurde und dort auf das Spülwasser traf. Die Agarplatten, die auf dem Sitzbrett standen, waren mit Kolonien übersät und auch in weiterer Entfernung von dem Abort aufgestellte Schalen wurden noch von den keimhaltigen Tröpfchen getroffen, trotzdem sie nur für kurze Zeit (2 Minuten) exponiert waren. Der Grund hierfür ist in dem Aufprallen des Wasserstrahls auf die in dem Becken befindliche Spülflüssigkeit zu suchen, durch das die Bildung feinster Tröpfchen in besonderer Weise begünstigt wird. Noch einen weiteren Nachteil, der von allgemeiner praktischer Bedeutung ist, weisen die Auswaschklosetts auf. Die Spülung ist mit bedenklichen Nebenwirkungen verbunden. Die Wucht des aus dem Spülreservoir strömenden Wassers reifst an den im Abortbecken befindlichen Massen, von den Kotballen sowohl wie besonders von den dünnflüssigen Stühlen Teilchen los und verschleudert sie weit in den Abortraum, wo sie sich auf den dort befindlichen Gegenständen oder, falls während der Spülung noch Personen sich in ihm befinden, an der Kleidung absetzen.

Auf Grund dieses Umstandes mufs dieses Klosettsystem als durchaus unzweckmäfsig und vom hygienischen Standpunkte aus

betrachtet als geradezu bedenklich bezeichnet werden. Von einer weiteren Einführung mufs daher entschieden abgeraten werden.

Weit günstiger mufs nach meinen Versuchen das Urteil über die Trichterklosetts mit Rundspülung lauten, wenngleich auch bei ihnen durch die Spülung noch Keime aus dem Trichter in die Höhe gerissen werden. Ihre Zahl ist aber verschwindend im Vergleich zu den bei ersterem System.

Nach meinen Versuchen ist demnach die Gefahr einer Infektion auf den Bedürfnisanstalten, den Aborten und Pissoirs, gröfser, als sie bisher eingeschätzt worden ist; die Einrichtungen sind keineswegs einwandfrei und durchaus verbesserungsbedürftig. Läfst sich auch schliefslich nicht jede Verschmutzung verhindern, jedenfalls aber kann sie durch zweckmäfsigere Vorrichtungen um ein Wesentliches vermindert werden.

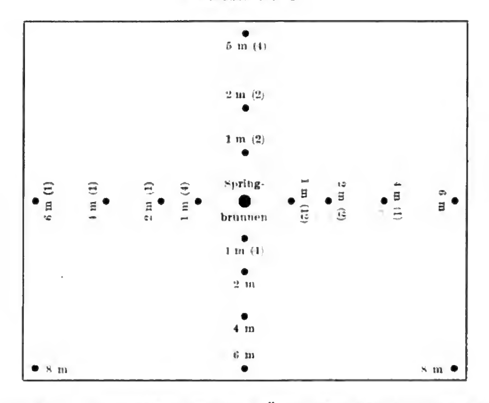
Es gibt aber im täglichen Leben noch eine Reihe von Fällen, in welchen die Möglichkeit der Verschleuderung von Wassertröpfchen vorkommen kann. Schon vor ca. zwei Jahren habe ich Versuche über die Verstreuung von Keimen durch Springbrunnen und die Brausevorrichtung in Badestuben ausgeführt.

Es war seinerzeit die Frage aufgeworfen worden, ob zur Speisung der Springbrunnen von einer Verwendung des teueren Leitungswassers Abstand genommen werden und an Stelle desselben das billiger zu beschaffende Flufswasser treten könnte.

Ich improvisierte in einem ca. 12 m im Geviert haltenden Raum einen Springbrunnen, indem ich aus einer erhöht stehenden, ca. 10 l fassenden Flasche, die mit einem entsprechend langen Schlauch versehen war, der in eine Glasspitze endete, Wasser in Form eines Springbrunnens auslaufen liefs. Als Indikator für die Keimverstreuung diente, wie in den obigen Versuchen, der Prodigiosuskeim. Um während des Versuchs möglichst jede Luftbewegung zu vermeiden, waren die Fenster verschlossen, nur zweimal wurde zum Zweck des Verlassens bzw. des Betretens des Raumes die Tür geöffnet. Die durch die natürliche Ventilation hervorgerufene Luftströmung war sehr gering, da die Innentemperatur

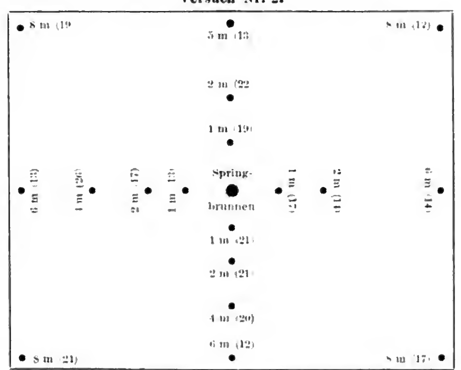
nur um wenige Grade von der Aufsentemperatur differierte und auch die Luftbewegung aufserhalb des Hauses, in der Natur, unbedeutend war. Beim Sammeln der aufgestellten Platten, nach Beendigung der Versuche wurde in der Weise vorgegangen, dafs nach Ablegen des Mantels, den ich beim Inbetriebsetzen des Springbrunnens angelegt hatte, die dem Springbrunnen entferntest stehenden Gelatineplatten zuerst zugedeckt wurden und zuletzt die in seiner Nähe aufgestellten, so dafs somit verhindert wurde, dafs Keime vom Springbrunnen in die entfernteren Ecken verschleppt wurden.

Versuch Nr. 1.



In 5,75 l Leitungswasser werden 2 Ösen 24 stündiger Prodigiosus-Agarkultur verteilt und in Form eines Springbrunnens aus einem erhöht stehenden Gefäfs ablaufen gelassen. Die mittlere Höhe des Wasserstrahls betrug 1,15 m, die gesamte Flüssigkeit flofs in 18 Minuten ab. Während des Abfliefsens und noch 12 Minuten nach demselben (insgesamt 30 Minuten) waren Gelatineplatten der Luft ausgesetzt in den mittels Punkten gekennzeichneten Entfernungen. Die Verbreitung der Prodigiosuskeime zeigen die ()-Zahlen an; wenn bei den Entfernungsangaben sich keine ()-Zahlen befinden, so bedeutet dies, dafs keine Keime auf den dort aufgestellten Platten zur Entwicklung kamen.

Versuch Nr. 2.



Zwei 24 stündige Prodigiosus-Agarkulturen werden abgeschwemmt und 10 l Leitungswasser zugesetzt. Wie beim Versuch Nr. 1 wird dieses Wasser in einem improvisierten Springbrunnen ablaufen gelassen; Höhe des Wasserstrahls 1,15 m, Dauer des Abfliefsens 30 Minuten. Während des Ablaufens und nach demselben noch eine Stunde (insgesamt $1^1/_2$ Stunden) sind Platten der Luft ausgesetzt. Verbreitung und Anzahl der Keime ergeben die ( )-Zahlen, wie bei Versuch I.

Die weite Verbreitung der Keime tritt besonders deutlich in dem 2. Versuch hervor; keine Platte blieb frei, vielmehr zeigten sie sich alle gleichmäfsig infiziert. In dem Aufsprudeln, Zurückfallen und Aufprallen des Wasserstrahls gegen den Boden des auffangenden Gefäfses wird der Anstofs zu einer ganz enormen Ablösung von feinsten Tröpfchen gegeben, die schon durch die im Raume herrschenden Zirkulationsströmungen nach allen Richtungen verschleppt wurden. In den Versuchen liegt eine Bestätigung der Angaben Flügges, dafs zum Transport keimhaltiger Tröpfchen schon minimale Luftströmungen ausreichen; es genügt dazu, wie er in Versuchen feststellte, eine Luftgeschwindigkeit von 0,1 mm pro Sekunde.

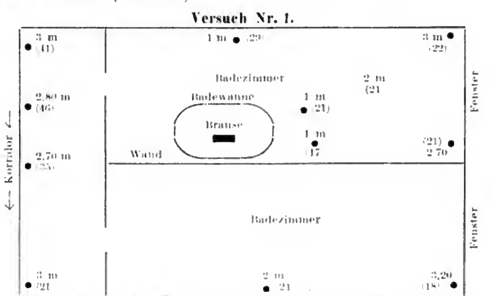
Der Umfang der Tröpfchenbildung bei Springbrunnen, die zum Teil enorme Mengen Wassers ausspeien und in beträchtliche

Höhe schleudern, läfst sich nicht im entferntesten abschätzen. Je nach der Stärke des gerade herrschenden Luftzuges werden die Tröpfchen mehr oder minder weit getragen werden, bevor sie sich zu Boden senken. Fände nun zur Speisung der Springbrunnen Wasser aus Flufsläufen Verwendung, das stets und besonders in der Nähe der Städte der Gefahr einer Verunreinigung durch die Dejekte des Menschen ausgesetzt ist, so würden die im Wasser enthaltenen Keime, die infektiöser Natur sein können, es seien hier nur die Erreger der Cholera und des Typhus genannt, sich der Umgebung des Springbrunnens mitteilen und zu einer weitgehenden Verschmutzung Veranlassung geben. Hygienischerseits ist daher zu verlangen, dafs für Springbrunnen nur Wasser durchaus einwandfreier Herkunft verwendet wird.

Ein Vorgang, der, in ähnlicher Weise wie der Springbrunnen, Anlafs zur Tröpfchenbildung gibt, ist das Ausströmen des Wassers aus der Brausevorrichtung, wie sie in Badestuben üblich ist.

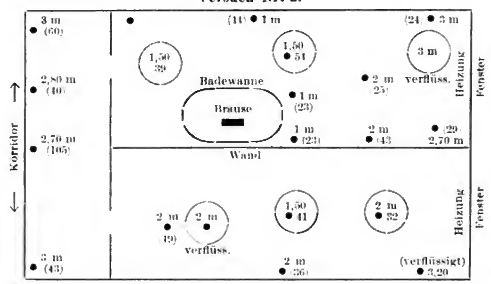
Das Versuchszimmer war ein Baderaum, der durch eine ca. 3 m hohe Längswand in zwei Zellen abgeteilt war, die Scheidewand reichte jedoch nicht bis zur Decke, sondern es blieb zwischen beiden noch ein ca. 1 m breiter Spalt offen; vor den Zellen befand sich ein kleiner Vorraum (s. Skizze).

Versuch Nr. 1.



Vor dem Versuch 4 Platten, 1 Stunde der Luft ausgesetzt, ergaben durchschnittlich 20,5 Keime, von denen einige nach 3 Tagen eine geringe Verflüssigung hervorriefen. Die während des einstündigen Brausens exponierten 13 Platten wiesen durchschnittlich 26 Kolonien, darunter viele stark verflüssigende, auf.

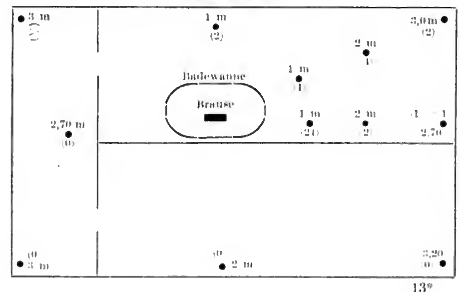
Versuch Nr. 2.



Vor dem Versuch wurden 6 Gelatineplatten ◯ 1 Stunde der Luft ausgesetzt; von diesen waren nach 2 Tagen 2 Platten völlig verflüssigt, so dafs eine Keimzählung nicht mehr möglich war, die übrigen ergaben im Durchschnitt 40 Keime. Während eines einstündigen Brausens standen 14 Platten offen, auf denen — mit Ausnahme einer, die verflüssigt war — durchschnittlich 40,2 Keime auswuchsen.

Bemerkenswert ist bei diesem Versuch die Anhäufung der Keime auf den Platten an der Korridorseite. Dies hat seinen Grund darin, dafs der zirkulierende Luftstrom, von der Heizung, welche sich unterhalb der Fenster befand, nach dem Innern, zum ungeheizten Korridor gerichtet, bei seiner Abkühlung an der kalten Wand die schwebenden keimhaltigen Partikelchen absetzte.

Versuch Nr. 3.



In die unter der Brause stehende Badewanne wurde eine Glasschale mit einer Aufschwemmung einer 24 stündigen Prodigiosus-Agarkultur gestellt, dann die Brause in Tätigkeit gesetzt, so dafs ihr Wasser auf die Schale fiel. 12 Platten wurden aufgestellt. Dauer des Brausens 1/2 Stunde; ()-Zahlen entsprechen der Anzahl Prodigiosus-Kolonien. Eine Stunde nach dem Brausen wurden wiederum 12 Agarplatten aufgestellt und 20 Minuten offen stehen gelassen. Nur auf einer Platte (= =) kam noch eine Prodigiosuskolonie zur Entwicklung.

Schon im Hinabfallen und vorzugsweise beim Auffallen des sich bildenden Regens müssen sich kleinste Tröpfchen ablösen und in die Luft übergehen. Dem Keimgehalt des Wassers entsprechend, werden Keime in mehr oder minder grofser Anzahl verschleudert werden. Wenn in meinen beiden ersten Versuchen nur eine verhältnismäfsig geringe Keimvermehrung in der Luft festzustellen war, so ist das auf die geringe Anzahl Keime, die in dem ausströmenden Leitungswasser an und für sich vorhanden war, zurückzuführen. Immerhin ist sie beweisend für die stattgefundene Verschleuderung von Keimen aus dem Wasser.

Der 3. Versuch zeigt, dafs aus der Badewanne von der dort aufgestellten Prodigiosus-Aufschwemmung Tröpfchen, mit Keimen beladen, aufzusteigen vermögen. Auf Grund dieser Beobachtung ist anzunehmen, dafs auch die an dem Körper des Badenden haftenden Bakterien durch das Abbrausen in die Luft verschleudert werden und eine Verschmutzung der Umgebung herbeiführen können. Auffallend mufs erscheinen, dafs die Tröpfchen in diesem Versuch nicht über die Trennungswand geflogen sind, was nach den Springbrunnen-Versuchen hätte angenommen werden können.

Berichtigung.

Im Aufsatz »Die Wirkung des Sonnenlichtes auf pathogene Bakterien« von Dr. Wiesner, Bd. 61, Heft 1 des »Archiv für Hygiene«, soll es auf **Seite 7 Zeile 14 von oben** statt 1 : 6,9 : 62 heifsen: **62 : 6,9 : 1.**

Die Einwirkung von Fleisch- und Hefeextrakten auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung des Magensaftes beim Pawlowschen Hunde.

Von

Dr. **W. Hoffmann** und Dr. **M. Wintgen** *)
Stabsarzt. Korpsstabsapotheker.

(Aus dem hygienisch-chemischen Laboratorium der Kaiser Wilhelms-Akademie.)

A. Einleitung.

Es liegt in dem hohen Preise für Liebigs Fleischextrakt begründet, dafs die unermüdliche Industrie danach strebte, ein billigeres Ersatzprodukt dafür herzustellen.

Zu diesem Zwecke wurden die eiweifsreichen Abfallprodukte des Gärungsgewerbes, die Bierhefen, die bis dahin vornehmlich als Düngemittel verwendet wurden, in der Weise verwertet, dafs die darin enthaltenen, aus der Hefezelle stammenden Extraktivstoffe in Form von Extrakten, analog dem Fleischextrakt, als Würzmittel »Siris« und »Ovos« in den Verkehr gebracht wurden.

Durch frühere Untersuchungen (1) wurde die Frage zu klären versucht, inwieweit die Hefeextrakte Siris und Ovos als Ersatzmittel für Fleischextrakt in Frage kommen könnten; es wurde seinerzeit die Zusammensetzung des Fleischextraktes und der Hefeextrakte verglichen und ihr physiologischer Wert unter anderem durch umfangreiche Ausnutzungsversuche ermittelt.

*) Im Juli 1906 verstorben.

Es sei nur kurz hervorgehoben, dafs eine wesentlich andere chemische Zusammensetzung der Hefeextrakte gegenüber den Fleischextrakten festgestellt worden war. Kreatin und Kreatinin, zwei wesentliche Bestandteile des Fleischextraktes, liefsen sich in keinem der beiden Hefeextrakte nachweisen*); dagegen wurden erhebliche Mengen von Alloxurbasen in letzteren gefunden, was später von K. Micko(2) durch Isolierung und Differenzierung der einzelnen Alloxurbasen (Adenin, Xanthin, Hypoxanthin) bestätigt und erweitert wurde. Im besonderen haben die Ergebnisse schliefslich die allgemeine Annahme, dafs der Fleischextrakt vornehmlich ein Anregungsmittel, d. h. ein Gewürz sei, von neuem bestärkt.

Aus den Versuchen konnte die Wertschätzung, welche der Fleischextrakt als Anregungsmittel allgemein geniefst, nur indirekt gefolgert werden, während Rubner(3) und später Bürgi(4) auf Grund physiologischer Untersuchungen mittels kalorimetrischer Bestimmungen den Standpunkt vertritt, dafs Fleischextrakt ein Anregungsmittel ist.

Um so gröfsere Bedeutung mufsten Versuche haben, die die Wirkung des Fleischextraktes auf die Magendrüsen selbst erkennen liefsen, bei einer Versuchsanordnung, bei der man sich am lebenden Organismus über den Ablauf der Magendrüsenfunktion unter dem Einflufs der Extraktivstoffe des Fleisches unterrichten konnte.

Durch die aufserordentlich zahlreichen und vielseitigen Versuche Pawlows, welche an nach besonderen Methoden operierten Hunden ausgeführt wurden, ist nachgewiesen worden, dafs die Verdauungsdrüsen auf die Einführung der verschiedenartigen Nahrungsstoffe äufserst zweckmäfsig reagieren; so prüfte im besonderen in der Bickelschen Abteilung des Berliner Pathologischen Instituts Sasaki die Einwirkung des Fleischextraktes auf die Magensaftabsonderung am Pawlowschen Hunde.

*) Dies wurde neuerdings durch E. Baur und H. Barschall in ihrer Arbeit »Beiträge zur Kenntnis des Fleischextraktes« (Arb. aus dem Kaiserl. Gesundh.-Amt 24, S. 552) bestätigt, welche auf der Jafféschen Reaktion eine quantitativ kolorimetrische Untersuchungsmethode aufbauten.

Unsere Aufgabe sollte zunächst in einer Nachprüfung der Sasakischen Arbeit bestehen, und sich dann auf vergleichende Versuche zwischen Fleischextrakt und den Hefeextrakten Siris und Ovos in ihrer Einwirkung auf die Magenschleimhaut ausdehnen.

Die Untersuchungen Sasakis hatten das Ergebnis, »dafs die Darreichung von Extraktivstoffen des Fleisches kurze Zeit vor der Aufnahme der eigentlichen Nahrung die Magenschleimhaut disponiert, auf die Nahrung mit einer viel intensiveren und nachhaltigeren Produktion eines verdauungskräftigen und in seinem Säuregehalt höherwertigen Saftes zu reagieren, als es der Schleimhaut ohne die voraufgegangene Gabe dieser Extraktivstoffe möglich ist.«

B. Vorbereitung für die Versuche.

Zur Ausführung mufste zunächst ein Hund nach der Pawlowschen Methode operiert werden.

Die Operation wurde im pathologisch-anatomischen Institut der hiesigen Universität von Privatdozent Prof. Dr. Bickel, Assistenten des Instituts und dem einen von uns derart ausgeführt, dafs aus dem Fundusteil des Magens durch einen Schnitt

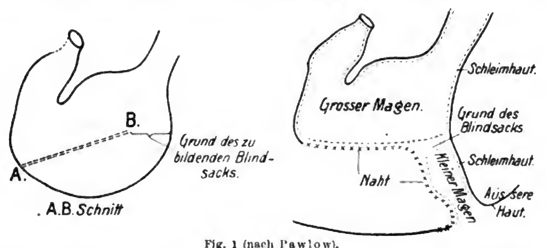


Fig. 1 (nach Pawlow).

die vordere und hintere Wand durchtrennt und ein Blindsack, ein sog. »kleiner Magen« gebildet wurde; dieser steht mit dem übrigen Magen hauptsächlich durch Nervenbahnen in Verbindung. Er ist ferner durch eine doppelte Schleimhautbrücke, welche

am Grunde des Blindsacks durch Einschneiden und Ablösung der Schleimhaut von der Submucosa nach beiden Seiten hin entsteht, von ihm getrennt und mit einer fistulösen Öffnung in die Bauchwand eingenäht.[1])

Zum Auffangen des Magensaftes während der Versuche war anfangs ein kleines Fläschchen, wie nebenstehend abgebildet, benutzt worden (Fig. 2).

Dieser Apparat hatte jedoch den Nachteil, dafs bei der Entleerung des abgesonderten Magensaftes, welche in den Versuchen halbstündig erfolgte, die Flasche von dem Verschlufs abgenommen werden mufste, was umständlich war und dem Hunde Schmerzen verursachte.

Fig. 2.



Fig. 3.

Es wurde deshalb von uns ein Apparat (Fig. 3) konstruiert, der folgende Vorzüge hat: Es befindet sich am Boden des länglichen Gefäfses ein Hahn, wodurch der Saft abgelassen wird, aufserdem ist das Glasgefäfs graduiert, so dafs man an demselben die Gesamtmenge des Saftes ablesen kann, und ferner befindet sich in der Hohlkugel ein seitlicher Stutzen mit einer Öffnung, aus der die Luft unter dem Druck des abgesonderten Magensaftes entweichen kann; liegt zäher Schleim den Wandungen an, so läfst er sich durch einen an den Stutzen angebrachten Gummischlauch nach unten herausblasen.

1) Die Nahrung gelang nur in den »grofsen« Magen, während der »kleine« unter dem Einflufs der Nahrung reinen Magensaft absondert.

C. Nachprüfung der von Sasaki angewandten chemischen und physikalischen Untersuchungsmethoden.

Zunächst erschien es notwendig, die von Sasaki angewandten Untersuchungsmethoden nachzuprüfen.

Es kam in Betracht:

1. die Feststellung der abgesonderten Saftmenge,
2. die Bestimmung der Azidität,
3. die Prüfung der Verdauungskraft.

I. Bestimmung der Menge.

Die Menge des abgesonderten Magensaftes wurde zunächst in dem im Teil B beschriebenen graduierten Apparat abgelesen; hierauf wurde er direkt in einem Meſszylinder filtriert. Auf dem Filter blieb der Schleim zurück, während der klare Magensaft durchfloſs, seine Menge wurde genau abgelesen, und die gefundenen Zahlen den in den Tabellen, Kurven und Übersichten angegebenen Werten zugrunde gelegt, nachdem der Filterverlust (bei trockenem Filter zu 0,9, bei feuchtem, schon vorher benutzten, mit 0,3 festgestellt), zugezählt war. Die angeführten Zahlen stellen also die Menge klaren Magensaftes dar; nur in den Fällen, wo die Schleimabsonderung besonders stark war, ist dieses ausdrücklich hervorgehoben.

II. Aziditätsbestimmung.

Die Azidität des Magensaftes hat Sasaki durch Titration mit $n/_{10}$ Natronlauge und Verwendung von Kongopapier als Indikator bestimmt.

Diese Methode ermöglicht eine schnelle Feststellung des Säuregehaltes und ist als genau zu bezeichnen, wenn lediglich Salzsäure in Frage kommt.

So läſst sich nach von Hifslin noch 0,0019 proz. Salzsäure durch Kongorot sicher nachweisen; auch hat dieser Indikator vielen anderen gegenüber den Vorzug, daſs der schwache Umschlag aus Rot in Blau durch saure Salze nicht beeinfluſst wird. Dagegen eignet sich dieser Indikator weniger zur Bestimmung orga-

nischer Säuren, da er diesen gegenüber zu wenig empfindlich ist. Mit Rücksicht hierauf und das ähnliche Verhalten anderer Indikatoren gegenüber organischen Säuren kommt von Jacksch in seinen Darlegungen über die Bestimmung der Gesamtazidität des Magensaftes zu dem Schlufs, dafs zu deren Feststellung alle Farbstoffproben kein unbedingt verläfsliches Resultat ergeben und für wissenschaftliche Versuche nicht zuverlässig genug sind.

Es erschien nötig, diesen Angaben Beachtung zu schenken und event. ein anderes weniger bequem ausführbares Verfahren, die Azidität zu bestimmen zu wählen, weil

1. weitere Angaben vorliegen, dafs Milchsäure als normaler Bestandteil des Magensaftes nüchterner Hunde gefunden ist und
2. Milchsäure als anormaler Bestandteil neben Salzsäure bei Verdauungsstörungen oft vorkommt.

Letzterem Faktor aber war unter Berücksichtigung des schweren operativen Eingriffs, dem die Versuchshunde unterworfen werden, besonders Rechnung zu tragen. Daher wurden auf Grund dieser Erwägungen Versuche darüber angestellt, wie weit sich Milchsäure neben Salzsäure qualitativ und quantitativ mittels Farbreaktion nachweisen lasse.

a) Der qualitative Nachweis der Milchsäure.

Zur qualitativen Prüfung auf Milchsäure bedienten wir uns des allgemein bekannten und als sehr empfindlich geltenden Reagens von Uffelmann. Die Schärfe des Nachweises wird durch gleichzeitige Anwesenheit von Salzsäure beeinträchtigt und macht die vorherige Isolierung der Milchsäure durch Ausschütteln mit Äther erforderlich.

Hierüber angestellte Untersuchungen ergaben folgendes; In 10 ccm einer 0,008 proz. Milchsäure liefs sie sich noch direkt nachweisen; bei gleichzeitiger Anwesenheit von Salzsäure nahm jedoch die Empfindlichkeit der Reaktion mit zunehmendem Ge-

halt an Salzsäure stark ab, wie aus folgender Zusammenstellung hervorgeht. In 10 ccm Flüssigkeit liefsen sich bei

einem HCl-Gehalt von 0,1%: noch 0,019%
« « « « 0,2%; « 0,09%
« « « « 0,3%: « 0,24%

Milchsäure nachweisen.

Da normaler Magensaft 0,2 bis 0,5% Salzsäure und darüber enthält, so dürfte hiernach ein direkter Nachweis von Milchsäure in solchem nach dieser Methode nicht möglich sein. Es mufs vielmehr eine Isolierung der Milchsäure durch Ausschütteln des Magensaftes mittels Äthers vorangehen, wie sie bei kleinen Mengen von Milchsäure vorgeschlagen ist.

Wie unsere Versuche ergeben haben, läfst sich auf diesem Wege qualitativ Milchsäure noch in minimalen Mengen nachweisen. So erhielten wir aus 10 ccm eines künstlichen Magensaftes, der 0,3% Salzsäure und 0,01% Milchsäure enthielt, noch eine deutlich erkennbare Reaktion.

b) Der quantitative Nachweis der Milchsäure.

Um die Grenzen der Empfindlichkeit von Kongorot als Indikator für organische Säuren festzustellen, wurden Versuche

1. mit Lösung von reiner Milchsäure,
2. mit künstlichem Magensaft, der neben Milchsäure Pepsin und Salzsäure enthielt, angestellt.

Übereinstimmend mit früheren Versuchen fanden wir, dafs der Farbumschlag aus Rot in Blau bei reiner Milchsäure kein scharfer ist, vielmehr treten Übergangsfarben auf, welche das Erkennen der erfolgten Neutralisation erschweren.

Als Belege seien folgende Versuche angeführt:

a) 25 ccm einer 0,105 proz. Milchsäurelösung[1]) verbrauchten 2,2 bis 2,5 ccm statt 2,95 ccm n/10 Alkali bis zum scheinbaren Ein-

1) Die Lösung war aus chemisch reiner, wasserfreier Milchsäure hergestellt worden.

2) Es wurden bei der Titration 2—3 Tropfen einer 0,1 proz. Lösung von Kongorot angewandt.

tritt des Farbumschlages[2]) und würde hiernach 0,017—0,027 Milchsäure zu wenig gefunden sein. b) In 50 ccm Milchsäurelösung wurde ihr Säuregehalt durch Eindampfen mit Kalziumkarbonat und gewichtsanalytische Bestimmung des in Lösung gegangenen Kalkes als Oxyd zu 0,118 % ermittelt. Bei der Titration wurden 5,4—5,6 ccm n/10 Alkali verbraucht, bis die Endreaktion scheinbar eingetreten war. Hieraus würde sich ein Säuregehalt von 0,1008 berechnen, wenn der höchste Alkaliverbrauch zugrunde gelegt wird.

Nachdem so festgestellt war, dafs die Titration reiner Milchsäurelösungen mit Kongorot als Indikator kleine Fehler bedinge, wurde dazu übergegangen, die Gesamtazidität in einem Gemisch von Salzsäure und Milchsäure von bekannter Zusammensetzung zu bestimmen.

Der Gehalt von Salzsäure war einmal mafsanalytisch als Silbersalz nach dem Verfahren von Volhard, ferner gewichtsanalytisch nach Sjösquist aus Bariumsulfat berechnet und zu 0,288 und 0,289 % gefunden worden. Der Milchsäuregehalt war nach dem von Salkowski abgeänderten Sjösquistschen Verfahren zu 0,1 % ermittelt worden.

Die Gesamtazidität[1]) berechnet sich hiernach zu 90,2. Es müfsten also 50 ccm dieses Magensaftes theoretisch 45,1 ccm n/10 Alkali verbrauchen. Wirklich verbraucht mit Kongorot als Indikator wurden bei der Titration nur 41,5 ccm. Diese entsprechen einer Gesamtazidität von 83. Der Fehler ist auch hier allein durch die Milchsäure bedingt. Aus diesen Versuchen mufste gefolgert werden, dafs die Bestimmung der Gesamtazidität, wie sie von Sasaki und vor ihm von anderen ausgeführt wurde, nur in dem Falle mit kleineren Fehlern behaftet sein konnte, wenn in dem Magensafte des Versuchshundes gröfsere Mengen Milchsäure neben Salzsäure enthalten wären.

Es sei bereits hier, unseren Versuchsergebnissen vorausgreifend bemerkt, dafs die Prüfung auf Milchsäure, die wir in der ersten

1) Die Gesamtazidität wird durch die zur Neutralisation von 100 ccm Magensaft verbrauchte Anzahl Kubikzentimeter $\frac{n}{10}$ Alkali ausgedrückt.

Zeit unserer Versuche regelmäfsig, später hin und wieder vornahmen, stets nur Spuren von Milchsäure ergab. Infolgedessen konnten wir von der Anwendung anderer komplizierterer Methoden absehen. Wir haben deshalb, wie Sasaki, bei allen unseren Versuchen die direkte Titration des Saftes mit n/10 Alkali ausgeführt. Hierbei haben wir stets zu 1 ccm Magensaft 1 Tropfen 0,1 proz. wässeriger Lösung von Kongorot zugesetzt und aufserdem den Farbumschlag durch Tüpfeln auf sehr empfindlichem Kongopapier kontrolliert.

III. Das Verfahren zur Bestimmung der Verdauungskraft des Magensaftes nach Mett.

Um die Gröfse der Verdauungskraft des Magensaftes, d. h. seine eiweifsverdauende Kraft zu bestimmen, bediente sich Sasaki des Mettschen Verfahrens. Dieses besteht darin, dafs man auf in Kapillaren koaguliertes Hühnereiweifs Magensaft einwirken läfst und nach einer gewissen Zahl von Stunden nachmifst, wieviel Millimeter von der Eiweifssäule in Lösung gegangen sind.

Dieses Verfahren wird besonders von Pawlow warm empfohlen; es läfst an Bequemlichkeit der Anwendung, Objektivität und Genauigkeit der Resultate nichts mehr zu wünschen übrig, und wird darum von diesem Forscher als Universalmethode zur Bestimmung eiweifsverdauender Fermente vorgeschlagen.

Diesem günstigen Urteile können wir uns nicht in vollem Umfange anschliefsen, wir halten darum es für nötig, auf die von uns geübte Methodik etwas näher einzugehen.

Es wurden stets Glasröhren von 2 mm lichter Weite, die vor der Füllung mit Alkohol und Äther gut gereinigt worden waren, benutzt. Das klare, von Luftbläschen scheinbar freie Eiweifs wurde aufgesogen und durch Einstellen in 95° warmes Wasser zum Erstarren gebracht. In dem Wasserzylinder blieben die Röhrchen $^1/_2$ Stunde, um nach der Herausnahme im Eisschrank aufbewahrt zu werden. Verwendet wurde in der ersten Zeit das Eiweifs von gewöhnlichen Handelseiern, die also jedenfalls nicht ganz frisch waren, später dagegen Trinkeier. Anfangs bei den Vorprüfungen

aus den ersten wirklichen Versuchen wurden Eiweifsröhren, die bis 4 Tage alt, verwandt, späterhin wurden stets 1—2 Tage alte Röhrchen benutzt. Die Röhren wurden mittels eines harten Glasschneiders in ca. 20 mm lange Stücke zerschnitten und nur die glatten, scharfkantig abgeschnittenen zu den Versuchen ausgewählt. Für diese wurden kleine Glaszylinder benutzt, welche 22—25 mm lichte Weite und ebenen Boden hatten. Die Gläser wurden stets zur Kontrolle mit 2 Eiweifsröhrchen und 1 ccm filtriertem Magensaft beschickt und mit einem Korkstopfen verschlossen.

Die gewählte Flüssigkeitsmenge reichte hin, die Röhrchen völlig zu bedecken. Nach 24 stündigem Verweilen im Thermostaten bei 37° wurde die unverdaut gebliebene Eiweifssäule mittels eines sehr genauen Mefsinstrumentes und unter Zuhilfenahme einer Lupe ermittelt.

Bei unseren Versuchen erwies sich zwar in vielen Fällen die Methode als durchaus brauchbar und ergab gute Übereinstimmung beider Röhrchen; jene Regelmäfsigkeit aber, wie sie Pawlow hervorhebt, war nicht immer zu konstatieren, und es differierte die Länge der Eiweifszylinder bis um mehrere Millimeter.

Folgende Fehlerquellen konnten wir beobachten: Die Eiweifssäule lag nicht in ihrer ganzen Ausdehnung gleichmäfsig fest der inneren Glaswandung an, erschien vielmehr stellenweise von ihr losgelöst. Dadurch wird dem Verdauungssafte eine gröfsere Angriffsfläche geboten und eine schnellere Hydrolisierung herbeigeführt. Ferner scheiden sich aus dem Eiweifs, das ähnlich dem Oberflächenwasser Luft in absorbiertem Zustande enthält, beim Koagulieren kleine Luftbläschen aus, die auf die Gleichmäfsigkeit der Verdauung störend einzuwirken vermögen. Es gelang, diese Fehlerquelle im Laufe der Untersuchung dadurch auszuschalten, dafs das Eiweifs auf 40° erwärmt und im Exsikkator evakuiert wurde. Schliefslich können auch beim Zerschneiden der Eiweifsröhrchen in kleinere Versuchsstücke Fehlerquellen hervorgerufen werden, einmal, wenn die Röhren nicht völlig senkrecht durchschnitten werden, indem dann eine gröfsere Ein-

wirkungsfläche geschaffen wird, sodann aber dadurch, dafs das Eiweifs beim Durchschneiden ebenfalls von der Wandung abplatzt. Trotz dieser Mängel ist das Mettsche Verfahren bei unseren Versuchen ausschliefslich angewandt worden, da es zur Zeit keine andere physikalische oder chemische Methode gibt, mit der so kleine Mengen Magensaft (1—2 ccm) wie sie hier zur Verfügung stehen, untersucht werden könnten.

Auch bezüglich des kurzen Zeitaufwandes und der Bequemlichkeit der Ausführung steht die Mettsche Methode bisher unerreicht da. Wir sind daher bei unseren Versuchen bestrebt gewesen, die Fehlerquellen, wie sie in den gebrachten Ausführungen skizziert wurden, nach Möglichkeit auszuschalten, was uns im Laufe der Untersuchungen, wenn auch nicht vollständig, gelungen ist.

D. Versuchsausführung.

I. Nachprüfung der Sasakischen Arbeit.

Für die Ausführung der Versuche waren folgende Gesichtspunkte mafsgebend:

Zunächst handelte es sich darum, unter genauer Befolgung der Versuchsanordnung Sasakis die Wirkung des Liebigschen Fleischextraktes festzustellen.

Der 24 Stunden nüchtern gehaltene Hund bekam zunächst 100 ccm destilliertes Wasser, $^1/_2$ Stunde später 100 ccm Milch; nachdem die Saftabsonderung stark nachgelassen bzw. aufgehört hatte, erhielt er an demselben Tage zum Vergleich 100 ccm einer 10proz. Liebiglösung[1]) und nach einer weiteren $^1/_2$ Stunde 100 ccm Milch.

Unsere Versuchsergebnisse sind in der Anlage tabellarisch zusammengestellt. Es wird im Textteil kurz darauf hingewiesen, teils werden sie durch Kurven zur Anschauung gebracht.

In Übereinstimmung mit den Sasakischen Resultaten wurde nach der Gabe von Fleischextrakt in sämtlichen Versuchen (An-

[1]) Der Einfachheit halber wird fernerhin »Liebig«, »Siris«, »Ovos« statt der vollständigen Bezeichnung gebraucht.

lage Versuch 1—3) von der Magenschleimhaut des kleinen Magens ein Saft produziert, der sowohl seiner Menge als seinem Säuregehalt nach höherwertig ist als der Magensaft, der nach der Gabe reinen Wassers und derselben Nahrungsmenge abgesondert wurde.

Es wurden in dem ersten Versuch in der zweiten halben Stunde nach der Wassermilchgabe 5,5 (mit Azidität 22,5) nach der Darreichung von Liebigmilch 9,1 ccm (Azidität von 85), bei dem zweiten entsprechend 4,3 (Azidität 84) und 8,7 ccm (Azidität 140), bei dem dritten 3,4 (Azidität 30) und 6,4 ccm (Azidität 115) erhalten.

Eine Übersicht über diese erhaltenen Zahlen gibt folgende Tabelle:

	I. Versuch		II. Versuch		III. Versuch	
	Menge	Azidität	Menge	Azidität	Menge	Azidität
Wasser-Milch .	5,5	22,5	4,3	84	3,4	30
Liebig-Milch . .	9,1	85	8,7	140	6,4	115

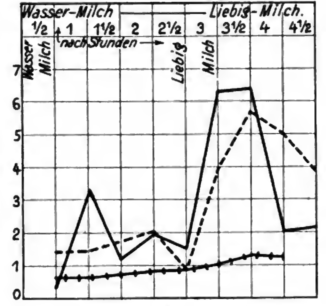
Rechnet man die Mengen des nach der ersten und zweiten halben Stunde abgesonderten Magensaftes zusammen, so erhält man Zahlen, welche sowohl die Wirkung des Wassers, sowie die Liebiglösung allein und der $^1/_2$ Stunde später folgenden Milch gabe in sich schliefsen und noch deutlicher die Überlegenheit des Fleischextraktes beweisen.

	I. Versuch		II. Versuch		III. Versuch	
Wasser-Milch .	0,1 + 5,5 =	5,6	1,4 + 4,3 =	5,7	0,4 + 3,4 =	3,8
Liebig-Milch . .	4,3 + 9,1 =	13,4	7,8 + 8,7 =	16,5	6,3 + 6,4 =	12,7

Versuch III graphisch dargestellt zeigt Kurve 1 (S. 195).

Betreffs der verdauenden Kraft des Magensaftes schreibt Sasaki: sie »wird durch die Extraktivstoffe zwar nicht in ihren absoluten Werten gesteigert, wohl aber zeigen alle Saftportionen-

die während der verlängerten Sekretionsdauer abgeschieden werden, eine verdauende Kraft, die jedenfalls nicht derjenigen nachsteht, welche der Magensaft bei den Kontrollversuchen mit destilliertem Wasser erkennen läfst.«



Kurve I.

Wir haben nach dem im Teil C. III Gesagten bei unseren Versuchen keine Konstanz in den Ergebnissen der Verdauungskraft feststellen können. Wenn auch bei dem Versuch III nach Liebiggabe höhere Verdauungswerte als nach Wasser gefunden wurden, so geht doch aus dem Versuch II und IV hervor, dafs auch geringere Werte zur Beobachtung kamen.

Hierbei ist zu erwähnen, dafs eine gröfsere Menge Magensaft mit einer etwas geringeren Verdauungskraft einen gröfseren Einflufs auf die Verdauungsvorgänge im Magen ausüben kann als eine kleinere Menge Saft mit etwas höherer Verdauungswirkung.

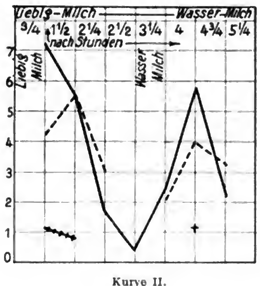
Ob verschiedene grofse Pepsinmengen die Unterschiede in der Verdauungskraft bedingen, oder ob andere Momente ausschlaggebend sind, bleibe dahingestellt.

Da der Einwand erhoben werden könnte, dafs die Magensaftdrüsen in nüchternem Zustande vielleicht »schwerfälliger« auf eingebrachte Nahrungsstoffe reagieren, und dafs die einmal angeregte Drüsentätigkeit durch den nachfolgenden Fleischextrakt zu besonders hoher Saftabsonderung angeregt werde, wurde ein Versuch in umgekehrter Reihenfolge (Liebigmilch - Wassermilch) angestellt (Versuch IV). Aber auch hier war bei dieser Versuchsanordnung der Einflufs des Fleischextraktes deutlich in die Augen springend (Kurve 2). Es wurden $^3/_4$ Stunden nach der Liebiggabe 7,2 ccm (Azidität 84,4) und nach der Wasserabgabe 2,5 ccm

(Azidität 41,6) abgesondert. Das Resultat nach $1\frac{1}{2}$ Stunden, wobei auch die Wirkung der Milchgabe zum Ausdruck kommt, ist aus folgender Tabelle zu ersehen:

	Nach den ersten $^3/_4$ Stunden		Nach den zweiten $^3/_4$ Stunden		Zusammen
	Menge	Azidität	Menge	Azidität	Menge
Liebig-Milch . .	7,2	84,4	5,6	110	12,8 ccm
Wasser-Milch .	2,3	46,6	5,8	80	8,1 »

Was die Dauer der Sekretion anbelangt, so konnte nicht in allen Fällen eine nachhaltigere Wirkung bei Liebigmilch gegenüber Wassermilch nachgewiesen werden, es ist sogar hie und da (Versuch 2 und 3) nach $1\frac{1}{2}$ Stunden ein stärkerer Rückgang in der Menge des abgesonderten Magensaftes beobachtet worden. Es ergibt sich aus den Versuchen, dafs wir in der Lage sind, durch die Extraktivstoffe des Fleisches (Liebigs Fleischextrakt, Bouillon usw.) in quantitativer und qualitativer (Aziditätsgrad) Hinsicht eine stärkere Beeinflussung der Magendrüsenfunktion herbeizuführen, als wenn an Stelle des Fleischextraktes nur Wasser gegeben worden ist.



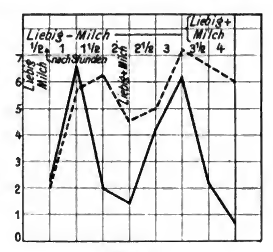
Kurve II.

Es war nun weiter noch zu prüfen, wie sich die Einwirkung des Fleischextraktes auf die Magenschleimhaut äufsert, wenn der Extrakt nicht vorher, sondern unmittelbar mit der Nahrung vermengt, gereicht wird.

Zu diesem Zwecke wurden 2 Versuche ausgeführt (Versuch V und VI der Anlage), die beide beweisen, dafs die gleichzeitige Darreichung von Fleischextrakt und Milch (10 g Extrakt in 100 ccm Milch gelöst) innerhalb einer Stunde die Absonderung einer etwas gröfseren Menge Safts mit höherem Säuregrad her-

vorruft, als wenn $^1/_2$ Stunde nach dem Fleischextrakt die Milch gegeben wird. Wenn, wie aus Tabelle und Kurve ersichtlich, der Unterschied auch kein bedeutender ist, so ist doch als sicher zum mindesten die Gleichwertigkeit beider Extraktdarreichungen erwiesen.

Im ersten Versuch wurden (Kurve III) nach Liebig mit nachfolgender Milch nach der ersten halben Stunde 2,2 ccm (Azidität 40), nach einer weiteren halben Stunde 6,5 ccm (Azidität 115) zusammen also 8,7 ccm nach kombinierter Gabe von »Liebig« und Milch 4,2 (Azidität 100) in der ersten 6,2 ccm (Azidität 145), in der zweiten halben Stunde zusammen 10,4 ccm abgesondert.



Kurve III.

Im zweiten Versuch wurde zwischen beiden Probemahlzeiten 100 ccm Aqua destill. eingeschoben, um jede event. Nachwirkung der ersten Portion auszuschalten. Das Ergebnis war jedoch dasselbe: in der ersten halben Stunde 2,1 ccm (Azidität 40) in der zweiten 5,8 ccm (Azidität 80). zusammen 7,9 ccm, nach der kombinierten Darreichung in der ersten halben Stunde 4,9 (Azidität 85), in der zweiten 3,0 (Azidität 110), zusammen ebenfalls 7,9 mit etwas höherem Säuregehalt. In diesem Versuch ist also die Saftmenge in beiden Fällen gleich.

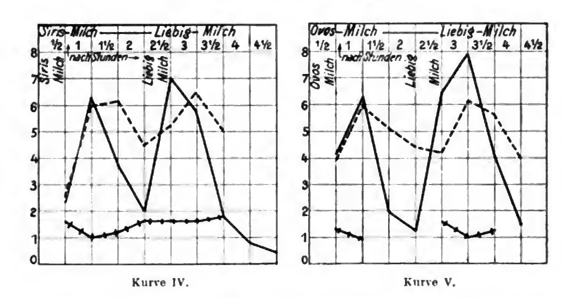
Wie aus der Tabelle ersichtlich, werden unter der gleichzeitigen Wirkung von Liebig und Milch in der ersten halben Stunde gröſsere Mengen Saft produziert, während bei der getrennten Darreichung der Höhepunkt der Saftsekretion in die zweite halbe Stunde fällt.

	I. Versuch					II. Versuch				
	nach der ersten $^1/_2$ Stunde		nach der zweiten $^1/_2$ Stunde		zusammen	nach der ersten $^1/_2$ Stunde		nach der zweiten $^1/_2$ Stunde		zusammen
	Menge	Azidität	Menge	Azidität	Menge	Menge	Azidität	Menge	Azidität	Menge
Liebig-Milch .	2,2	40	6,5	115	8,7	2,1	40	5,8	80	7,9
Liebig-Milch .	4,2	100	6,4	145	10,6	4,9	85	3,0	110	7,9

II. Vergleichende Versuche über die Einwirkung von Hefe- und Fleischextrakten auf die Magensaftabsonderung.

Von Hefeextrakten wurden Siris und Ovos geprüft. Die Untersuchungen wurden derart angestellt, dafs sowohl »Liebig« mit »Ovos« als »Liebig« mit »Siris« und »Siris« mit »Ovos« und zwar auch in umgekehrter Reihenfolge verglichen wurden.

Versuch VII—XIV der Anlage.



Kurve IV. Kurve V.

Aus den obenstehenden Kurven ist zu ersehen, dafs bei allen Modifikationen der Liebigsche Fleischextrakt relativ und absolut gröfsere Mengen Magensaft mit höheren Säuregraden zur Absonderung brachte, als die Hefeextrakte Siris und Ovos.

Die höchsten absoluten[1]) Zahlen betrugen:

bei	nach ½ Stunde		nach 1 Stunde	
	Menge	Säuregehalt	Menge	Säuregehalt
Liebig . . .	7,8 ccm	112 $\frac{n}{10}$ Na OH.	9,1 ccm	140 $\frac{n}{10}$ Na OH.
Siris	7,0 »	110 —	5,3 »	130 —
Ovos	4,1 »	95 —	6,3 »	130 —

1) Die höchsten relativen Zahlen sind aus den einzelnen Versuchen zu ersehen.

Die Verdauungskraft zeigte, wie schon erwähnt, auch bei diesen Versuchen keine eindeutige Überlegenheit des einen im Vergleich zum andern.

Nach den eben geschilderten Versuchen war eine Überlegenheit des Liebigschen Fleischextraktes im Vergleich zu den Hefeextrakten in ihrer Einwirkung auf die Funktion der Magendrüsen (Menge und Azidität) nachgewiesen. Es war nun noch festzustellen, ob es durch Erhöhung des prozentualen Extraktgehaltes von »Siris« und »Ovos« gelang, eine Wirkung auf die Magenschleimhaut auszuüben, welche ungefähr der durch Liebigschen Fleischextrakt hervorgerufenen gleich kam.

Hierbei sollte auch besonders der geringere Geldwert der Hefeextrakte berücksichtigt werden. Durch Anfragen bei gröfseren Firmen war festgestellt worden, dafs bei einem Bezugsquantum von 1000 kg.

1 kg Liebig . . . . = 8,50 M.
1 « Siris . . . . = 5,00 «
1 « Ovos . . . . = 3,50 «

kostet.

Wir gaben nun dem Hunde zunächst eine 12,5proz. und später eine 15proz. Sirislösung und eine 15proz. Ovoslösung, von denen die 15proz. Sirislösung dem Preis nach (75 Pf.) ungefähr einer 10proz. Liebiglösung (85 Pf.) entspricht.

Es wurde in keinem Versuch (Versuch XII, XIII, XIV) ein Saft sezerniert, der qualitativ und quantitativ dem entsprach, der nach Gabe des Liebigextraktes erzielt wurde; auch hatte die 15proz. Siris- und Ovoslösung bei dem Hunde Widerwillen hervorgerufen, wie auch die 10proz. Hefeextrakte bei Beginn der Versuche weniger gern von dem Hunde genommen wurden; im Laufe der Zeit hatte er sich aber daran gewöhnt.

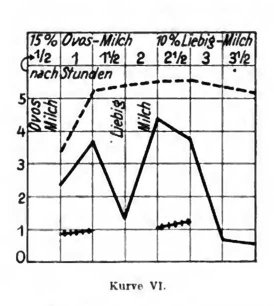
Die näheren Verhältnisse veranschaulicht folgende Tabelle und Kurve VI und VII

15 proz. Siris-Milch. — 10 proz. Liebig-Milch.

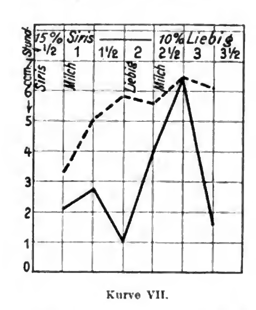
Extrakte	Nach der ersten ½ Stunde		Nach der zweiten ½ Stunde		zusammen nach 1 Stunde
	Menge	Azidität	Menge	Azidität	Menge
15 proz. Siris .	2,1 ccm	68,4	2,8	100	4,9 ccm
10 proz. Liebig .	4,0 »	112	6,5	130	10,5 »

15 proz. Ovos-Milch. — 10 proz. Liebig-Milch.

Extrakte	Menge	Azidität	Menge	Azidität	Menge
15 proz. Ovos .	2,4 ccm	69	3,7	105	6,1
10 proz. Liebig .	4,4 »	110	3,8	110	8,2



Kurve VI.



Kurve VII.

Es erscheint angezeigt, hier darauf hinzuweisen, dafs wir die 10proz. Extraktlösungen, wie Sasaki, deshalb anwandten, um deutlichere Ausschläge bei den Versuchen zu erhalten. Im allgemeinen wird zu Genufszwecken eine Liebiglösung von viel geringerem Prozentgehalt verwandt.

Recht von Bedeutung ist bei konzentrierteren Extraktlösungen der Gehalt an Salzen (bei Liebig ca. 22 %[1]), der auf osmotischem Wege eine mehr oder weniger starke Transsudation von Gewebsflüssigkeit in den Magendarmkanal und hierdurch einen diarrhöischen Zustand herbeiführen kann. Aus den mit den Hefe-

[1]) Einen noch höheren Gehalt an Mineralstoffen, besonders an Kochsalz, besitzt Ovos.

extrakten Siris und Ovos im Vergleich zu dem Liebigschen Fleischextrakt angestellten Versuchen ergibt sich also, dafs sie selbst in gröfseren Gaben als Liebig in ihrer Wirkung auf die Magenschleimhaut von geringerer Bedeutung sind als dieser.

Versuche, die Ursache der verschiedenen physiologischen Wirkung der Extrakte zu ermitteln.

Die bisherigen Untersuchungen hatten ergeben, dafs der Fleischextrakt den beiden Hefeextrakten in der Wirkung auf die Sekretion des Magensaftes zweifellos überlegen ist, weiterhin aber auch, dafs Ovos wiederum weniger wirksam ist als Siris. Da diese letzteren Extrakte aus dem gleichen Ausgangsmaterial gewonnen wurden, so konnten einmal die Art der Darstellung, z. B. eine mehr oder minder weitgehende Veränderung der Hefeextraktivstoffe, sodann die etwaigen Zusätze zu dem Produkte in Form von Salzen etc. hieran schuld tragen. Unsere Aufmerksamkeit wurde zunächst auf letzteren Punkt hingelenkt.

Aus früheren chemischen Untersuchungen des Laboratoriums war bekannt, dafs Ovos sich gegenüber Liebig, wie Siris, durch einen höheren Gehalt an Mineralstoffen auszeichnet und dieser wiederum zum gröfsten Teil aus Kochsalz besteht. Das Kochsalz ist in der Hefezelle nur in relativ kleinen Mengen enthalten und dürfte zum Zwecke der Konservierung dem Ovosextrakte extra zugesetzt werden.

Folgende Werte waren seinerzeit für die betreffenden Extrakte in Prozenten gefunden worden:

	Ovos (fest)	Siris	Liebig
Gesamtgehalt an Mineralstoffen	26,85	12,95	19,50
Cl auf Kochsalz berechnet	16,45	2,85	2,60

Nun liegen eine Reihe von Arbeiten über den Einflufs des Kochsalzes auf die Saftsekretion im Magen, sowohl am Menschen wie am Hunde, der nach Pawlow operiert war, vor[8]), welche übereinstimmend feststellten, dafs Kochsalz die Magensaftsekretion herabmindere.

Es lag daher nahe, einen Versuch zu machen, dem Ovosextrakte durch Dialyse die Mineralstoffe, besonders das Kochsalz, teilweise zu entziehen und mit dem so behandelten Safte Versuche über seine nunmehrige Wirksamkeit anzustellen. Zu dem Zwecke wurde eine 10proz. Ovoslösung 36 Stunden der Dialyse unterworfen. Die hierdurch von den Mineralsalzen gröfstenteils befreite Extraktlösung wurde sodann für einen Versuch benutzt, bei dem einmal diese Lösung und Milch, ferner die ursprüngliche Ovoslösung und Milch gegeben wurden. Weiterhin wurde, um den Einflufs der Mineralstoffe auch im Fleischextrakte zu studieren — die Meinungen über ihre physiologische Wirkung gingen bisher sehr auseinander, — auch Fleischextrakt der Dialyse unterworfen. Der so von den Salzen und etwaigen dialysierbaren organischen Verbindungen gröfstenteils befreite Extrakt, ebenso auch der unveränderte Extrakt, wurden nunmehr in ihrer Wirkung auf die Magensaftsekretion verglichen.

Die Ergebnisse, auf deren tabellarische Wiedergabe hingewiesen wird, waren sehr überraschende. Sowohl im Ovos wie auch im Fleischextrakt war die ursprüngliche Wirkung auf ein ganz geringes Mafs zurückgegangen. Es mufste hieraus gefolgert werden, dafs die wirksamen Bestandteile, d. h. die, welche die Magensaftsekretion anregen, in den durch die Dialyse entfernten Bestandteilen zu suchen waren.

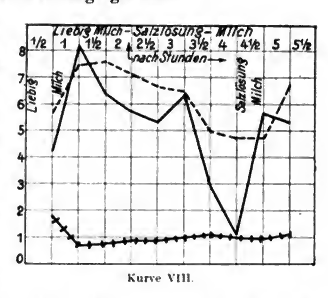
Ob dies die Kalisalze sind, wie früher behauptet, später aber von verschiedener Seite widerlegt wurde, oder organische Verbindungen, welche durch die Dialyse ebenfalls entfernt werden, hierbei in Betracht kommen, sollte durch weitere Versuche nachgewiesen werden.

Es wurde zunächst folgender Versuch ausgeführt:

Aus dem Prozentgehalt an Säuren und Basen, wie sie in der Asche des Fleischextraktes enthalten sind, wurde berechnet, was

für Salze, und in welchen Mengenverhältnissen in dem Fleischextrakte vorkommen; speziell aus der Phosphorsäure, wieviel primäres bezw. sekundäres Kaliumphosphat in dem ursprünglichen Extrakte enthalten gewesen war. Unter Zugrundelegung dieser Werte wurde eine Salzlösung von der Stärke[1]) hergestellt, wie sie in einer 10 proz. Fleischextraktlösung ungefähr vorliegt. Hierbei wurden nur die Spuren von Eisen, sowie Kieselsäure, die nicht diffundiert, unberücksichtigt gelassen.

Ein mit dieser Salzlösung ausgeführter Versuch Nr. 19 ergab, dafs diese eine deutliche erkennbare Wirkung auf die Saftsekretion ausübte. Sie reichte allerdings nicht an die Wirkung der Fleischextraktlösung heran, war jedoch grofs genug, dafs ein Einflufs der Salzlösung vorzuliegen schien (Kurv. VIII).



Kurve VIII.

Der Versuch wurde in der Weise wiederholt, dafs obige Salzlösung, ferner dialysierter, also von den Salzen teilweise befreiter Extrakt aus Original Liebig an ein und demselben Tage nacheinander geprüft wurden. Während sich die Unwirksamkeit des Fleischextraktes, der von dialysierbaren Substanzen grofsenteils befreit war, von neuem bestätigt fand, zeigte die anorganische Salzlösung nicht die erwartete Wirkung. Es mufs daher die Frage, welches sind die wirksamen Bestandteile des Fleischextraktes, zunächst noch offen bleiben. Die Klärung ist jedoch durch die Erkenntnis, dafs die Wirkung in der dialysierbaren Substanz liege, ihrer Verwirklichung nähergerückt, soll weiter verfolgt werden und sind Versuche hierüber im Gange.

1) Die Lösung hatte folgende Zusammensetzung:

mg SO_4	0,128 %
mg HPO_4	0,145 %
K_2HPO_4	0,451 %
K_3PO_4	1,094 %
Na_2SO_4	0,141 %

Beurteilung der Ergebnisse.

An der Hand der erhaltenen Versuchsergebnisse ist nachgewiesen worden, dafs die Sekretion des Magensaftes von Fleischextrakt in höherem Mafse angeregt wird als von Hefeextrakten, weiterhin, dafs die Azidität des Magensaftes einmal keine konstante und ferner wiederum bei Liebig stets gröfser ist als bei den Hefeextrakten.

Worauf können nun die verschiedenen Säurewerte beruhen? Der wechselnde 0,07—0,55% betragende Gehalt an Salzsäure könnte den Gedanken nahelegen, als ob die Magendrüsen einen Saft mit wechselndem Säuregehalt produzierten. In Übereinstimmung mit Pawlow nahmen wir aber an, dafs ein Saft von konstanter Azidität abgeschieden wird, dessen Säurerückgang sekundär herbeigeführt wird. Die Azidität des Magensaftes wird nämlich beeinflufst von dem alkalisch reagierenden Schleim, einem Produkte der Schleimdrüsen, welches die Oberfläche des Magens bedeckt. Mit diesem Schleim kommt der Verdauungssaft in Berührung. Da dies um so langsamer geschieht, je geringer die Saftbildung ist, da ferner von der Stärke der Saftsekretion die Alkaleszenz des Magenschleimes selbst abhängig ist, so wird die Azidität von der Saftmenge und auch von dem hierdurch beeinflufsten Schleim bedingt. Diese Überlegungen sind bei der Beurteilung der gefundenen Säurewerte zu berücksichtigen; sie sind auch experimentell erhärtet worden. Es wurde filtrierter, klarer Magensaft, dessen Azidität bekannt war, mit sezerniertem Schleim ½ Stunde in einem Schüttelapparat kräftig geschüttelt. Hierbei wurde in 2 Versuchen ein Rückgang der Azidität von 130 auf 120, bzw. 120 auf 100 festgestellt.

Dies Ergebnis ist um so bemerkenswerter, als die Reaktion des benutzten Magenschleimes, der in dünner Schicht an den Wandungen des Versuchsgefäfses langsam herabgelaufen und mit dem sauren Magensafte auch schon vorher in innige Berührung gekommen war, so weit neutralisiert erschien, dafs er

an der Oberfläche gegen Lackmuspapier nicht mehr alkalisch reagierte.

Die von Pawlow und Bickel hervorgehobene Konstanz in der Azidität des Magensaftes glauben wir daher durchaus bestätigen zu müssen.

Es bleibt noch zu erörtern übrig, ob und inwieweit Fleisch- und Hefeextrakte die Verdauungskraft des Magensaftes zu beeinflussen vermögen.

Unsere Untersuchungen haben in dieser Beziehung keine erheblich voneinander abweichenden Werte ergeben. Es können daher, unter Hinweis auf die im Teil C. III. gebrachten Ausführungen keine sicheren Schlüsse gezogen werden.

Schlufssätze.

1. Die Versuche von Sasaki sind bestätigt worden mit der Einschränkung, dafs die Reaktionsdauer des Fleischextraktes im allgemeinen nicht eine solch nachhaltige war, wie er angibt.
2. Es gelang nicht, mit Hefeextrakten die gleiche Wirkung zu erzielen wie mit Liebig; auch bei Erhöhung der Hefeextraktmengen wurde dies nicht erreicht.
3. Von den beiden Hefeextrakten hat Ovos geringeren physiologischen Wert als Siris.
4. Die physiologische Wirkung des Fleischextraktes beruht nach unseren bisherigen Versuchen in jenen Bestandteilen, welche mittels Dialyse entfernt bzw. isoliert werden können.
5. Trotz des verschiedenen Säuregehaltes der einzelnen Saftportionen ist die Azidität des sezernierten Saftes an sich konstant, sie wird aber durch den Schleim bzw. dessen alkalische Reaktion sekundär beeinflufst.

Die Versuche sind am 16. März 1906 abgeschlossen worden.

I. Versuch. Wasser-Milch — Liebig-Milch.

	Wasser-Milch			Liebig-Milch		
	Menge ccm	Säuregrad $\frac{n}{10}$ Na OH	Verdauungskraft mm	Saftmenge ccm	Säuregrad $\frac{n}{10}$ Na OH	Verdauungskraft mm
Nach $^1/_2$ Std.	0 nur Schleim	—	—	4,3	36,6	—
» 1 »	5,5	22,50	—	9,1	85,0	—
» $1^1/_2$ »	4,7	43,30	—	5,5	85,0	—
» 2 »	2,3	36,66	—	2,5	77,5	—
» $2^1/_2$ »	1,1	27,78	—	—	—	—

II. Versuch. Wasser-Milch — Liebig-Milch.

	Wasser-Milch			Liebig-Milch		
Nach $^1/_2$ Std.	1,4	40	—	7,8	100	11,75
» 1 »	4,3	84	13,2	8,7	140	7,5
» $1^1/_2$ »	1,25	} 87,5	13,1	2,45	111	11,95
» 2 »	1,2 viel Schlm.			1,6 } Schleim	} 90	12,8
» $2^1/_2$ »	—	—	—	1,6 }		
				1,4 viel Schlm.	} 50	9,65
				1,0 viel Schlm.		

III. Versuch. Wasser-Milch — Liebig-Milch.

	Wasser-Milch			Liebig-Milch		
Nach $^1/_2$ Std.	0,4 } viel Schlm.	} 30	7,6	6,3	80	14,2
» 1 »	3,4 }			6,4	115	10,8
» $1^1/_2$ »	1,3	} 42	9,0	2,0	100	14,15
» 2 »	2,0 Schlm.			2,1 Schlm.	79	13,8
» $2^1/_2$ »	1,6 viel Schlm.	18,8	—	—	—	—

IV. Versuch. Liebig-Milch — Wasser-Milch.

	Liebig-Milch			Wasser-Milch		
	Menge ccm	Säuregrad $\frac{n}{10}$ Na OH	Verdauungskraft mm	Menge ccm	Säuregrad $\frac{n}{10}$ Na OH	Verdauungskraft mm
Nach 3/4 Std.	7,2	84,45	11,1	2,5	41,6	—
» 1 1/2 »	5,6	110,0	9,45	5,8 viel Schlm.	80,0	12,6
» 2 1/4 »	1,8 Schleim	60,0	—	2,2	65	—
» 2 1/2 »	0,4 »	—	—	Schleim	—	—

V. Versuch. Liebig-Milch — Liebig + Milch.

	Liebig-Milch			Liebig in Milch gelöst		
Nach 1/2 Std.	2,2	40	—	4,2	100	17
» 1 »	6,5	115	12	6,2	145	17
» 1 1/2 »	2,0	125	10,3	2,2	} 120	—
» 2 »	1,5	90	—	0,7		

VI. Versuch. Liebig-Milch — Wasser — Liebig + Milch.

	Liebig-Milch-Wasser			Liebig in Milch gelöst		
Nach 1/2 Std.	2,1	40	—	4,9	85	13,85
» 1 »	5,8	80	14,9	3,0	110	—
» 1 1/2 »	2,0	78	—	0,8	107	—
» 2 »	1,2	55	—	—	—	—
Wassergabe nach 1/2 Std.	1,0 Schleim	55	—	—	—	—

VII. Versuch. Wasser-Milch — Ovos-Milch.

	Wasser-Milch			Ovos-Milch		
Nach 1/2 Std.	0,1 Schleim	—	—	3,0	45	12,3
» 1 »	2,3	35	7,8	2,8	70	13,5
» 1 1/2 »	2,2	} 70	14,5	3,6	85	11,6
» 2 »	2,0 Schleim			1,8	78	11,4
» 2 1/2 »	0,5 viel Schlm.	33	—	0,7 Schleim	—	—

VIII. Versuch. Ovos-Milch — Liebig-Milch.

	Ovos-Milch			Liebig-Milch		
	Menge ccm	Säuregrad $\frac{n}{10}$ Na OH	Verdauungskraft mm	Menge ccm	Säuregrad $\frac{n}{10}$ Na OH	Verdauungskraft mm
Nach $^1/_2$ Std.	4,1	80	12,6	6,4 viel Schlm.	85	15,6
» 1 »	6,3	120	9,5	7,9	125	10,4
» $1^1/_2$ »	1,9	105	—	4,1	115	13,8
» 2 »	1,3 viel Schlm.	90	—	1,5	80	—

IX. Versuch. Siris-Milch — Liebig-Milch.

	Siris-Milch			Liebig-Milch		
Nach $^1/_2$ Std.	2,4 Schleim	50	16,5	7,1	105	16,5
» 1 »	6,3	120	10,3	5,8	130	16,0
» $1^1/_2$ »	3,8	125	12,5	1,8	100	12,6
» 2 »	2,0 Schleim	90	16,2	0,8 Schleim	—	—
» $2^1/_2$ »	—	—	—	0,5 Schleim	—	—

X. Versuch. Liebig-Milch — Siris-Milch.

	Siris-Milch			Liebig-Milch		
Nach $^1/_2$ Std.	4,8	96,6	7,4	7,0	110	11,0
» 1 »	8,4	127,5	7,4	6,2	130	9,4
» $1^1/_2$ »	3,7 Schleim	110	—	2,3	130	9,15
» 2 »	viel Schlm.		10,75	0,8 viel Schlm.	120	—

XI. Versuch. Ovos-Milch — Siris-Milch.

	Ovos-Milch			Siris-Milch		
Nach $^1/_2$ Std.	2,8	95	10,5	4,9	105	13,1
» 1 »	4,5	127	12,5	5,7	130	14,0
» $1^1/_2$ »	2,2	130	12,8	1,0 viel Schlm.	100	—
» 2 »	1,5 Schleim	85	—	—	—	—
» $2^1/_2$ »	0,6 Schleim	66	—	—	—	—

XII. Versuch. 10proz. Liebig-Milch — 12,5 proz. Siris-Milch.

	10 proz. Liebig-Milch			12,5 proz. Siris-Milch		
	Menge ccm	Säuregrad $\frac{n}{10}$ Na OH	Verdauungskraft mm	Menge ccm	Säuregrad $\frac{n}{10}$ Na OH	Verdauungskraft mm
Nach $^1/_2$ Std.	1,4	43	—	3,6	70	12,25
» 1 »	6,2	105	10,9	2,8 Schleim	90	10,4
» $1^1/_2$ »	2,1	100	11,8	0,8 Schleim	83	—
» 2 »	1,4 Schleim	94	—	0,6 viel Schlm.	—	—

XIII. Versuch. 15 proz. Siris-Milch — 10 proz. Liebig-Milch.

	15 proz. Siris-Milch			10 proz. Liebig-Milch		
Nach $^1/_2$ Std.	2,1	68,4	—	4,0	112	—
» 1 »	2,8	100	—	6,5	130	—
» $1^1/_2$ »	1,1	116,7	—	1,6	123	—

XIV. Versuch. 15 proz. Ovos-Milch — 10 proz. Liebig-Milch.

	15 proz. Ovos-Milch			10 proz. Liebig-Milch		
Nach $^1/_2$ Std.	2,4	69	9,5	4,4	110	11,5
» 1 »	3,7	105	10,0	3,8	110	12,9
» $1^1/_2$ »	1,4	108	—	0,7	} 105	—
» 2 »	—	—	—	0,6		—

XV. Versuch. Liebig-Milch — Salzmischung-Milch.

	Liebig-Milch			Salzlösung-Milch		
Nach $^1/_2$ Std.	4,3	115	10,8	5,6	115	10,4
» 1 »	8,1	150	8,9	5,4	115	9,45
» $1^1/_2$ »	6,4	153	8,8	3,7	135	10,0
» 2 »	5,8	145	9,35	—	—	—
» $2^1/_2$ »	5,4	137	9,3	—	—	—
» 3 »	6,4	130	10,6	—	—	—
» $3^1/_2$ »	3,0	120	11,1	—	—	—
» 4 »	1,2	—	—	—	—	—

XVI. Versuch.

Nach Stunden	10 proz. Ovoslösung-Milch						10 proz. Liebiglösung (1/2 Stunde später)					
	nach Dialyse des Ovos			ohne Dialyse des Ovos			nach Dialyse des Liebig			ohne Dialyse des Liebig		
	Menge	Azidität	Verdauungskraft	Menge	Azidität	Verdauungskraft	Menge	Azidität	Verdauungskraft	Menge	Azidität	Verdauungskraft
1/2	0,4 Schleim	—	—	2,7 Schleim	85	18,1	2,1	115	18,6	3,7	118	17,5
1	1,2 + viel Schleim	40	—	4,1	125	13,6	2,4 + viel Schleim	95	19,7	5,5	140	13,6
1 1/2	1,2 + viel Schleim			0,8	—	—	—	—	—	—	—	—

XVII. Versuch.

	Dialysierter Rückstand von 10 proz. Liebig-Milch.			10 proz. Liebig-Dialysat.-Milch			Salzlösung					
1/2	20	50	—	5,3 + viel Schleim	85	10,7	1,9	72	—	—	—	—
1	2,7	70	10,3	9,5	120	12,4	—	—	—	—	—	—
1 1/2	1,0	87	—	3,6 + viel Schleim	55	9,5	—	—	—	—	—	—

XVIII. Versuch.

Nach Stunden	100 ccm Leitungswasser ½ Std. später 100 ccm Milch + Salzlösung			100 ccm Leitungswasser ½ Std. später 100 ccm Milch			100 ccm Milch + 10 g Liebig		
½	Schleim 1 ccm	—	—	4,2	90	11,2	6,7	100	12,7
1	3,2 + viel Schleim	30	—	5,3	90	9,5	7,2	105	9,0
1½	3,6	90	11,1	2,8 + viel Schleim	90	4,7	8,5	125	8,15
2	30	95	11,5	—	—	—	—	—	—
2½	2,9	70	—	—	—	—	—	—	—

Literaturübersicht.

1. M. Wintgen, Über die Bedeutung von Fleisch- und Hefeextrakten für die Ernährung (Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militärsanitätswesens), Heft 29, Nr. VII.
2. Zeitschrift für die Untersuchung der Nahrungs- und Genufsmittel. VI. 781, VII. 57.
3. Archiv für Hygiene, Bd. 51, S. 19.
4. Archiv für Hygiene, Bd. 51, S. 1.
5. Deutsche medizinische Wochenschrift, 1905, Nr. 19, S. 747.
6. Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen, 1896.
7. v. Jaksch, Klinische Diagnostik, 1896.
8. Verhandlung des Kongresses für innere Medizin, 22. Bd.: Experimentelle Untersuchung über den Einflufs der Kochsalzthermen auf die Magensaftsekretion von Dr. A. Bickel.
9. König, Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genufsmittel, IV. Aufl., Bd. 1.

Erklärung für die Kurven.

———— bedeutet die Saftmenge in Kubikzentimetern.

-------- bedeutet die für 100 ccm Magensaft zur Neutralisation verbrauchte Menge $\frac{n}{10}$ Na OH. Die Kurvenzahl ist mit 20 zu multiplizieren.

+++++- bedeutet die Verdauungskraft (festgestellt nach dem Mettschen Verfahren in Millimetern).

Zitronensäure und Sonnenstrahlen als Desinfektionsmittel für Trinkwasser für militärische Zwecke.

Von

Marinestabsarzt **Riegel**
Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.
Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Die folgenden Versuche sind ausgeführt worden, um zu prüfen, ob durch Zitronensäurezusatz zum Wasser in Mengen, wie sie gewöhnlich zur Bereitung von Limonaden verwendet werden, bestimmte pathogene Keime so rasch und sicher abgetötet würden, dafs für gewisse militärische Zwecke die Umwandlung verdächtigen Trinkwassers in Limonaden empfohlen werden könnte.

Ein Bedürfnis, unabhängig von den grofsen, fahrbaren Wassersterilisierungsapparaten, wie sie fast bei allen Heeren vorgesehen sind, Trinkwasser auf möglichst einfache Art von pathogenen Keimen zu befreien, ist namentlich im Kolonialkrieg und bei den Landungsabteilungen der Marine vorhanden. Die kleinen Verbände, die hier häufig zur Verwendung kommen müssen, Streifwachen, Wachen und Posten, sind nach den Eigentümlichkeiten der Kriegsführung in unzivilisierten Ländern nicht selten gezwungen, völlig selbständig aufzutreten, von der Hauptmacht und ihren Hilfsmitteln auf längere oder kürzere Zeit losgelöst. Schwierig gestaltet sich für solche Abteilungen dann die Versorgung mit gesundem Trinkwasser.

Das einfachste und sicherste Verfahren, das Wasser abzukochen und es so oder in Form dünner Kaffee- oder Teeaufgüsse zu geniefsen, läfst sich nicht immer durchführen, sei es, dafs es an Brennmaterial mangelt, sei es, dafs aus Gründen militärischer Sicherheit kein Feuer angezündet werden darf, denn der Rauch ist ein arger Verräter, der in dünnbevölkerten Ländern die Aufmerksamkeit auf weite Strecken auf sich zieht.

Die chemischen Desinfektionsmittel, die zur Trinkwasserreinigung, namentlich auch für militärische Zwecke empfohlen worden sind, wie Kaliumpermanganat, Chlor, Brom, Jod, Wasserstoffsuperoxyd u. a., sind, abgesehen davon, dafs über ihre Wirksamkeit keineswegs Einigkeit herrscht, teils sehr schwierig zu transportieren, teils ist ihre Anwendung so umständlich und zeitraubend, dafs sie für den oben angegebenen Zweck, der vor allem Einfachheit erfordert, kaum in Betracht kommen.

Am bequemsten wäre es, wenn sich Keimfreiheit durch den Zusatz chemischer Stoffe erzielen liefse, die als verbreitete Genufsmittel überall verhältnismäfsig leicht zu beschaffen sind. Schumburg[1]), dem wir überhaupt ausführliche Untersuchungen über die Gewinnung keimfreien Trinkwassers durch chemische Zusätze verdanken, hat auch eine Reihe solcher Stoffe untersucht, so Tee und Kaffee, Cognak, Rotwein und Essig. Er kommt zu dem Ergebnis, dafs alle diese Stoffe entweder gar keine oder eine so geringe desinfizierende Kraft besitzen, dafs sie in der Praxis für die Wassersterilisierung nicht zu verwenden sind. Die Zitronensäure, ebenfalls ein verbreitetes Genufsmittel, ist von Schumburg nicht untersucht worden. Dagegen hat Liefmann[2]) nach dieser Richtung mit der Zitronensäure eine Reihe von Versuchen angestellt, die zu recht günstigen Ergebnissen führten. Er fand, dafs Typhusbakterien, die in Reinkultur Leitungswasser zugesetzt worden waren, das 0,5 % Zitronensäure enthielt, in 30 Minuten völlig abgetötet wurden. Gleiche Ergebnisse erzielte er mit einer Aufschwemmung von Typhusstuhl.

1) Schumburg, Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militärsanitätswesens, Heft 15, 1900, S. 34 ff.

2) Liefmann, Untersuchungen über die Wirkung einiger Säuren auf gesundheitsschädliches Trinkwasser. Diss. Freiburg 1902.

Die Liefmannsche Arbeit war mir noch nicht bekannt, als ich meine Untersuchungen über die Wirkung von Zitronensäure auf pathogene Keime in Wasser begann.

Um über die Menge der Zitronensäure, die in gewöhnlicher Zitronenlimonade enthalten ist, eine Vorstellung zu bekommen, stellte ich mir aus einer Anzahl Zitronen Limonade in der Art her, dafs ich den frisch mit dem Quetscher ausgeprefsten Saft einer Zitrone mit $^1/_2$ l Wasser vermischte, dem ich noch 10—15 g Rohrzucker hinzufügte. Wie durch Titrierung festgestellt wurde (1 g Zitronensäure wird durch 14,3 ccm Normalnatronlauge neutralisiert), enthält so hergestellte Limonade im Mittel 3,5 prom. Zitronensäure. Aus einer Zitrone kann man im Mittel mit dem Quetscher 27 ccm Saft gewinnen. Bei den Zitronen, die ich benutzte, war Säuregehalt und Saftmenge bei jeder ziemlich gleich. Nach Hensel und Prinke[1]) bewegt sich der Säuregehalt des frisch geprefsten Saftes der Zitrone überhaupt zwischen 5,2 und 7,6 %. Der Säuregehalt ist abhängig vom Reifungszustand der Frucht — unreife enthalten mehr Säure als reife — und, wenn man nach anderen Früchten schliefsen darf, wahrscheinlich auch von der Art und vom Ursprungsland der Frucht. Dieses ist bei den Zitronen, die bei uns auf den Markt kommen, nach Beythien und Bohrisch[2]) je nach der Jahreszeit verschieden. In gewissen Monaten überwiegen bei uns die Zitronen aus Sizilien, in anderen die aus Spanien, in wieder anderen die aus Kleinasien usw. Der ungleichmäfsige Zitronensäuregehalt der verschiedenen Zitronen veranlafste mich, zu meinen Versuchen später nur noch kristallisierte Zitronensäure zu benutzen. Aufserdem waren für diese Wahl noch folgende Gründe mafsgebend: Die kristallisierte Zitronensäure ist billiger, leichter zu beschaffen und leichter zu transportieren als die in der Frucht enthaltene Säure. Ferner ist sie unter gewöhnlichen Verhältnissen unbegrenzt haltbar. Auch die Möglichkeit, dafs die im Zitronensaft enthaltenen Pektin- und Eiweifsstoffe die keimschädigende Wirkung der Zitronen-

1) Hensel und Prinke, Darstellung und Prüfung von Zitronensaft, Pharm. Ztg., Nr. 49, S. 68.

2) Beythien und Bohrisch, Zeitschrift f. Nahrungs- und Genufsmittel, Bd. 9, S. 451.

säure beeinträchtigen könnten, mufste ins Auge gefafst werden. Nachdem Vorversuche ergeben hatten, dafs durch Zusatz von 3—4 prom. Zitronensäure bei reichlicher Einsaat selbst Choleravibrionen nicht rasch genug abgetötet wurden, wurde bei dem späteren Versuchen stets 6 prom. Zitronensäurelösung benutzt, der noch 50 prom. Rohrzucker zugesetzt wurden. Diese Lösung stellt allerdings schon eine etwas kräftiger schmeckende Limonade dar, die aber selbst bei reichlichem Genufs keine unangenehme Säureempfindung hinterläfst. Zu den Kontrollversuchen wurden Lösungen von Rohrzucker 50 : 1000 benutzt. Die Lösungen wurden mit Leitungswasser hergestellt, zu je 100 ccm in Kölbchen abgefüllt und an 3 auf einanderfolgenden Tagen 15 Minuten im Dampftopf sterilisiert. Geschmack und Säuregehalt der Limonade wird durch das Kochen in dieser Zeit nicht verändert. Die Einsaat geschah in der Weise, dafs in ein Limonade- und in ein Zuckerwasserkölbchen möglichst gleiche Mengen von Bakteriummaterial in Reinkultur gebracht wurde. Bei niederen Einsaaten wurden eine oder mehrere Ösen einer 20stündigen, bei 37° gewachsenen Agarkultur in gröfseren Bouillonmengen sorgfältig verrieben und dann mit steriler Pipette die gleichen Mengen in die Kölbchen gegeben. Bei hohen Einsaaten wurde 20stündige Bouillonkultur filtriert und mit dem gut geschüttelten Filtrat weiter so verfahren, wie es oben bei den Verreibungen in Bouillon beschrieben ist. In der Regel wurde je 1 ccm des Filtrats eingesät. Beide Kölbchen wurden fernerhin in bezug auf Belichtung, Temperatureinwirkung usw. ganz gleich behandelt. Nach Ablauf einer gewissen Zeit wurde aus beiden Kölbchen 1 ccm entnommen und zu Gelatineplatten verarbeitet. Die mit Limonade zu beschickenden Gelatineröhrchen wurden nach der Verflüssigung mit je 2 Tropfen (27 Tropfen = 1 ccm) Normalnatronlauge versetzt. Dieser Zusatz neutralisiert, wie berechnet und erprobt wurde, 1 ccm 6 prom. Zitronensäurelösung nahezu vollständig. So wurde in den Limonaderöhrchen und in den Kontrollröhrchen die Reaktion wieder gleichgestellt. Die Gleichstellung der Reaktion, die Liefmann unterlassen hat, ist notwendig, wie eine einfache Nährbodenkontrolle beweist. Setzt man nämlich von 2 Gelatineröhrchen,

die je 5 ccm Gelatine[1]) enthalten, dem einen 1 ccm sterilen Wassers, dem zweiten 1 ccm 6 prom. Zitronensäurelösung zu, besät beide nach der Verflüssigung mit den gleichen Mengen Typhuskultur und giefst dann Platten, so findet man, dafs bei mittleren Einsaaten auf der ersten Platte etwa 3 mal mehr Typhuskolonien gewachsen sind als auf der zweiten. Zudem sind die Kolonien auf der Wasserplatte fast durchweg gröfser und üppiger als auf der Zitronensäureplatte. Bei sehr geringen Einsaaten wird der Unterschied noch deutlicher, bei sehr reichlichen allerdings verwischt er sich mehr und mehr. Näheres ergibt sich aus der folgenden Tabelle:

Kontrolle	120 Kolonien	I
Zitronensäure	28 »	I
Kontrolle	10 700 »	II
Zitronensäure	3 500 »	II
Kontrolle	840 000 »	III
Zitronensäure	720 000 »	III

Bei jedem Versuch wurden je 2 Platten gegossen. Die Platten wurden nach 48stündigem Aufenthalt im 22°-Brutschrank mit dem Mikroskop gezählt und am 3. Tage noch einmal kontrolliert. Die Zählergebnisse in den Tabellen beziehen sich, wenn nicht ausdrücklich etwas anderes angegeben ist, auf den Durchschnitt beider Platten. In vielen Fällen und stets am Schlufs einer Versuchsreihe wurden aus dem Limonadekölbchen noch 10 ccm in 100 ccm Bouillon gebracht, die vorher, dem Zitronensäurezusatz entsprechend, mit Normalnatronlauge alkalisch gemacht worden war. Diese Kontrollkölbchen wurden bei 37° gehalten und nach 48 Stunden beurteilt.

Geprüft wurde nur das Verhalten von Typhusbazillen, von Ruhrbazillen (Typ. Flexner) und von Choleravibrionen, also der Erreger derjenigen Krankheiten, bei denen erfahrungsgemäfs die Infektion durch Trinkwasser im Felde am meisten zu fürchten ist. Aufserdem haben diese Mikroorganismen für den vorliegenden

1) Gelatine, der nach Einstellung auf den Lackmusneutralpunkt noch 1,5 prom. kristallisiertes Natriumkarbonat zugefügt worden war. Solche Gelatine wurde zu allen Versuchen benutzt.

Zweck noch den Vorzug, gegen Säuren in recht verschiedenem Grade empfindlich zu sein: Etwa in der Mitte zwischen dem wenig empfindlichen Typhusbazillus und dem sehr empfindlichen Choleravibrio steht in bezug auf Säureempfindlichkeit der Ruhrbazillus.

Die Versuchsbedingungen so zu gestalten, dafs die »natürlichen« Verhältnisse möglichst nachgeahmt worden wären, unterliefs ich mit Absicht, denn vermutlich sind die Umstände, unter denen bei natürlichen Verhältnissen die Infektion durch Trinkwasser zustande kommt, in den einzelnen Fällen so verschieden, dafs ihre Nachahmung im Versuch einfach unmöglich ist. Wie grofs die Zahl der pathogenen Keime im Wasser gewesen ist, dessen Genufs eine Infektion hervorgerufen hat, können wir in keinem Falle wissen. Die im Vergleich der ungeheuren Zahl der ausgeführten bakteriologischen Wasseruntersuchungen äufserst spärlichen Funde pathogener Keime drängen allerdings zur Annahme, dafs nur eine sehr geringe Anzahl dieser Keime in den Magen-Darmkanal zu gelangen braucht, um unter günstigen Bedingungen eine Infektion zu verursachen. Zahlenmäfsige Angaben über das Vorkommen pathogener Keime im Wasser überhaupt finden sich in der Literatur nur spärlich, selbst wenn man die älteren, nicht auf serodiagnostischen Untersuchungen gestützten Mitteilungen als bewiesen annimmt und mit berücksichtigt. Natürlich sind dabei nur die Angaben verwertbar, denen das einfache Plattenkulturverfahren ohne Anreicherung, Fällung usw. zugrunde liegt. R. Koch[1]) spricht in seinem Bericht über das Vorkommen von Choleravibrionen im Wasser eines Tümpels nur davon, dafs sie auf der Gelatineplatte »ziemlich zahlreich« gewachsen seien. Lubarsch[2]) fand im Bilschwasser eines Schleppdampfers 40 Choleravibrionen im Kubikzentimeter, C. Fraenkel[3]) im Flufswasser 24—30. Fischer und Flatau[4])

1) R. Koch, D. med. Wochenschr., 1884, S. 222.

2) Lubarsch, D. med. Wochenschr., 1892, S. 979.

3) C. Fraenkel, D. med. Wochenschr., 1892, S. 925.

4) Fischer u. Flatau, Zentralbl. f. Bakteriol. usw., 1901, Bd. XXIX, Nr. 8, S. 329.

wiesen aus 6 ccm Brunnenwasser einen einzigen Typhuskeim nach. Ähnlich sind die Zahlenangaben anderer Autoren.

Bei der grofsen Schwierigkeit, die es gemacht haben würde, so geringe Menge pathogener Keime unter einer grofsen Menge von Wasserbakterien auf der Platte wieder aufzufinden und so die Wirksamkeit der Zitronensäure auf diese Keime zu beurteilen, verzichtete ich auf die Einsaat geringster Mengen der pathogenen Mikroorganismen in unsterilisiertes Leitungs- oder Flufswasser und begnügte mich damit, mehr oder weniger reichliche Mengen von Reinkultur in sterilisiertes Leitungswasser einzusäen, das vorher in Limonade oder Zuckerwasser umgewandelt worden war. Da es sich zeigte, dafs die desinfizierende Kraft der Zitronensäure unter sonst gleichen Umständen ganz aufserordentlich von der Zahl der vorhandenen Bakterien abhängig war, wählte ich zur endgültigen Beurteilung nur sehr grofse Bakterienmengen, so dafs in bezug auf Anzahl der Bakterien überhaupt bei diesen Versuchen Wässer, die als Trinkwasser noch in Frage kommen könnten, wohl übertroffen sein dürften. Allerdings habe ich auch beim Zählen mit dem Okularnetzmikrometer auf der Einsaatplatte nie mehr als 2 300 000 Keime im Kubikzentimeter gezählt, während nach Flügge[1]) die Keimzahl stark verunreinigter Flufsläufe zwischen 2 und 40 Millionen beträgt. Dabei ist aber zu beachten, dafs meine Zahlen in allen Fällen durch Einsaat 1 ccm der Aufschwemmung in die Gelatine ohne alle Verdünnungen gewonnen wurden, so dafs nach den Untersuchungen Reatas[2]) angenommen werden mufs, dafs in Wirklichkeit ein ungeheueres Vielfaches der gefundenen Zahlen vorhanden gewesen ist. Die Zahlen in der Spalte »Einsaat« der Tabellen beziehen sich auf die Einsaat in die Kontrollkölbchen, die nur Zuckerwasser enthielten. In allen Fällen wurde auch die Einsaat, die in die Limonadekölbchen gemacht worden war, festgestellt. Beide Zahlen stimmten in der Regel recht genau überein, wenn auch stets die aus dem

1) Flügge, Grundrifs d. Hyg., 4. Aufl., 1897, S. 205.

2) Reata, Zentralbl. f. Bakter. usw., II., Bd. 11, 1904, S. 290—93.

Limonadekölbchen gewonnenen Einsaatzahlen etwas niedriger waren. Nur beim Typhusbazillus fand sich in einzelnen Fällen bei niederen Einsaaten ein abweichendes Verhalten, wie das Protokoll eines Versuches zeigt, der wegen der niederen Einsaaten weiter nicht verwertet wurde:

Einsaat	Zeit	Kolonien	Bemerkung
Zuckerwasser 16500	2 ½ Stunden	Zuckerwasser 18300	Die bei »Limonade« unter 1. aufgeführten Zahlen sind aus Röhrchen genommen, deren Reaktion, wie oben angegeben, vorher berichtigt wurde; bei den unter 2. aufgeführten war die Berichtigung der Reaktion unterblieben.
Limonade { 1. 12000 2. steril!		Limonade { 1. 450 2. 150	

Da sich ähnliches bei anderen Versuchen wiederholte, wenn auch nicht so ausgesprochen wie im vorstehenden, wird man zur Annahme gedrängt, dafs Typhusbazillen in dem Augenblick, wo sie mit 6 ‰ Zitronensäure in Berührung kommen, so geschädigt werden können, dafs sie auf der Gelatineplatte, wenn diese etwa 0,12 proz. Zitronensäure enthält, nicht mehr zu wachsen vermögen, dafs sie sich aber bei längerem Aufenthalt in der Limonade in gewissem Sinne an die Zitronensäure gewöhnen, so dafs später auch auf dem weniger zusagenden Nährboden wieder Wachstum möglich wird. Zugleich ist dieser Versuch ein weiterer Beweis dafür, dafs man, wenn man der Gelatine 1 ccm 6 prom. Zitronensäurelösung hinzufügt, die Reaktion berichtigen mufs, wenn man vergleichbare Werte erhalten will.

Um zu prüfen, wie die Zitronensäure in Flüssigkeiten wirksam sei, die reich an guten Nährstoffen sind, wurden einige Versuche mit Bouillon angestellt, der 6 prom. Zitronensäure zugefügt worden war. Auch der Einflufs des Temperaturoptimums der drei untersuchten Bakterienarten wurde bei einigen Versuchen geprüft, die bei 37° vorgenommen wurden.

Das Ergebnis der Versuche geben die folgenden Tabellen wieder:

Cholera. Tabelle I.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon
	Zimmer-temperatur	5 Min.	1 : steril 2 : 5	1 335 200	getrübt
	»	15 »	1 : steril 2 : 1 (Cholera)	1 170 200	klar
	»	45 »	steril	515 700	»
	»	3 Stdn.	»	53 800	
	»	4 »	»	12 000	»

Cholera. Tabelle II.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon
2 220 400	Zimmer-temperatur	15 Min.	steril	1 980 600	getrübt
	»	30 »	»	745 800	klar
	»	45 »	»	700 200	»

Ruhr (Flexner). Tabelle I.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon
1 864 000	Zimmer-temperatur	1 Std.	1 422 400	1 684 000	
	»	2 »	120 000	1 110 600	
	»	3 »	520	840 700	
	»	4 »	310	482 000	
	»	6 »	steril	378 000	klar

Ruhr (Flexner). Tabelle II.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon
2 200 500	Zimmer-temperatur	3 Stdn.	480	1 018 200	
	»	4 »	200	766 300	getrübt
	»	5 »	1 : steril 2 : 7	611 000	»
	»	6 »	steril	438 600	klar

Typhus. Tabelle I.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon
2 160 200	Zimmer-temperatur	3 Stdn.	633 100	2 144 700	
	»	6 »	420 800	1 880 400	
	»	22 »	380	1 218 100	getrübt

Typhus. Tabelle II.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon
2 094 400	Zimmer-temperatur	15 Stdn.	179 000	1 652 300	
	»	20 »	180	1 522 100	
	»	22 »	steril	1 516 000	klar
	»	24 »	steril	1 137 500	»

Aus diesen Tabellen, von denen ich noch eine Reihe ähnlicher besitze, ergibt sich, dafs bei sehr reichlichen Einsaaten und bei Zimmertemperatur durch eine Lösung von 6 prom. Zitronensäure und 50 prom. Rohrzucker Cholerafibrionen abgetötet werden zwischen 15 und 30 Minuten, Ruhrbazillen zwischen 5 und 6 Stunden und Typhusbazillen zwischen 22 und 24 Stunden. Die rasche Abnahme der Keimzahl auf den Kontrollplatten bei Cholera und Ruhr spricht dafür, dafs schon die 50 prom. sterilisierte Rohrzuckerlösung allein auf den Choleravibrio und auf den Ruhrbazillus ziemlich schädigend wirkt. Beim Typhusbazillus ist diese Wirkung weniger deutlich zu erkennen und namentlich viel weniger regelmäfsig. In wenigen Fällen wurde sogar eine geringe Vermehrung der Keime festgestellt, allerdings nur bei niederen Einsaaten. Vereinzelt steht eine Beobachtung, bei der bei einer Einsaat von 184 300 Keimen in den Kubikzentimeter 50 prom. Zuckerlösung nach $1\frac{1}{4}$ Stunden nur noch 13 600 nachweisbar waren, und wo nach 20 Stunden Sterilität eingetreten war. Die wenigen Versuche, die bei 37° vorgenommen wurden, stimmen mit den im vorstehenden wiedergegebenen im wesentlichen über-

ein; die Abtötung der Keime trat hier zu derselben Zeit ein wie bei Zimmertemperatur.

Wesentlich verschieden war das Verhalten in nährstoffreicher Flüssigkeit, in Bouillon mit 6 prom. Zitronensäurezusatz, wie folgende Tabelle zeigt:

Typhus. Tabelle III.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle
2 140 000	Zimmer-temperatur	2 Stdn.	1 115 000	2 220 000
	»	4 »	930 000	nicht mehr zählbar
		20 »	1 070 000	nicht mehr zählbar

Versuche mit Ruhrbazillen und Choleravibrionen in Bouillon wurden nicht ausgeführt.

Die Versuche ergeben also, dafs nur der Choleravibrio in Limonade von der Zusammensetzung der verwandten so rasch und so sicher abgetötet wird, dafs bei Choleragefahr die Umwandlung verdächtigen Trinkwassers in Limonade empfohlen werden könnte, vorausgesetzt natürlich, dafs man zwischen der Bereitung und dem Genufs der Limonade mindestens $^1/_2$ Stunde verstreichen lassen kann. Beim Ruhrbazillus und namentlich beim Typhusbazillus ist bei hohen Einsaaten die Zeit, die verstreichen mufs, bis alle Keime abgetötet sind, so grofs, dafs das Verfahren für die Praxis nicht in Frage kommen kann. Da die Erhöhung des Zitronensäurezusatzes bis zu den durch Geschmack und Bekömmlichkeit gezogenen Grenzen keinen wesentlichen Vorteil versprach, ging ich dazu über, mit der Zitronensäure ein zweites gutes und billiges Desinfektionsmittel zu verwenden, das Sonnenlicht, das in tropischen und subtropischen Gegenden meist das ganze Jahr über in Fülle zur Verfügung steht. Das Ergebnis der grofsen Zahl von Untersuchungen, die über die keimtötende Kraft des direkten Sonnenlichtes im allgemeinen veröffentlicht worden sind, ermutigte sehr zu diesem Vorgehen. Die Mitteilungen über den Einflufs des Sonnenlichtes auf Bak-

terien im Wasser mit Angabe der Zahl der ursprünglich vorhandenen Bakterien ist allerdings gering. Über sehr hohe Einsaaten habe ich überhaupt keine gefunden. Buchner[1]) berichtet, dafs im Mai durch direktes Sonnenlicht im Freien Typhusbazillen in Wasser, das sich in offenen Glaszylindern befand, bei einer Einsaat von 30140 auf den Kubikzentimeter in $2^1/_2$ Stunden abgetötet worden seien. Bei einem gleichlaufenden Versuch mit Choleravibrionen blieben bei einer Einsaat von 7800 nach $2^1/_2$ Stunden noch 15 und 24 Keime im Kubikzentimeter übrig. Derselbe Autor erwähnt an anderer Stelle[2]), dafs Bacterium coli bei einer Einsaat von 100000 Keimen auf den Kubikzentimeter nach einstündiger Besonnung völlig vernichtet worden sei.

Die Anordnung bei meinen Versuchen war im wesentlichen dieselbe wie sie bei den Versuchen, die nur mit Limonade ausgeführt wurden, schon beschrieben worden ist. Die Kölbchen, alle von gleicher Gröfse, Form und sonstigem Aussehen, waren in allen Fällen im Freien und stets im direkten Sonnenlicht aufgestellt. Alle Versuche wurden in den Mittagsstunden bei wolkenlosem Himmel ausgeführt. Es wurden sowohl im Sommer als auch im Herbst und Winter Versuche angestellt. Die Temperaturen wurden auf einem Thermometer abgelesen, das in einem mit 100 ccm Wasser gefüllten Kölbchen stak, das zwischen den Versuchskölbchen stand. Wenn der Versuch im Gange war, wurden die Kölbchen nicht mehr absichtlich geschüttelt. Die Kölbchen waren mit Watte verschlossen, so dafs das Licht nur in das Innere gelangen konnte, nachdem es zuvor eine Glaswand durchdrungen hatte. Die Versuchsbedingungen wurden durch diesen Umstand natürlich aufserordentlich verschlechtert, denn wie Thiele und Wolf[1]) gezeigt haben, werden gerade die wirksamsten Strahlen, die im Ultraviolett, durch gewöhnliches Glas nahezu sämtlich zurückgehalten. Mit Bouillon wurden keine Versuche angestellt, da Bouillon in gewöhnlicher Konzentration

1) Buchner, Archiv f. Hyg., XVII, S. 187.

2) Buchner, Zentralbl. f. Bakt., XI, Nr. 25, S. 782.

3) Thiele und Wolf, Arch. f. Hyg., LVII, S. 34 u. 35.

für ultraviolette Strahlen so wenig durchgängig ist, dafs kein Erfolg zu erwarten war.

Den Verlauf der Versuche zeigen folgende Tabellen:

Cholera. Tabelle III.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon	Bemerkung
1 864 800	20—20,5°	5 Min.	steril	784 900	klar	21. VII.
	20,5—21°	10 »	»	430 000	»	12 h 15—12 h 25 wolkenloser Himmel

Ruhr. Tabelle III.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon	Bemerkung
2 010 000	20—25°	25 Min.	19 000	844 700	getrübt	26. VII.
	25—29°	40 »	1 470	270 500	»	11 h — 12 h
	29—32°	1 Std.	steril	6 000	klar	wolkenloser Himmel

Ruhr. Tabelle IV.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon	Bemerkung
990 700	15—17°	30 Min.	9 740	430 400	•	12. X.
	17—19°	1 Std.	steril	36 000	klar	11 h — 12 h wolkenloser Himmel

Typhus. Tabelle IV.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon	Bemerkung
2 120 000	20—25°	25 Min.	513 400	1 200 000		26. VII.
	25—29°	40 »	270 500	622 400	getrübt	11 h — 12 30
	29—32°	60 »	6 000	326 200	»	wolkenloser Himmel
	32—34°	1 Stunde 15 Min.	230	140 700	»	
	34—35°	1 Stunde 30 Min.	steril	121 200	klar	

Typhus. Tabelle V.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon	Bemerkung
2 110 000	16—20°	1 Stunde	1 800	750 700	getrübt	10. X.
	20—22°	1 Stunde 30 Min.	steril	620 500	»	11 30 — 1 h wolkenloser Himmel

Typhus. Tabelle VI.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon	Bemerkung
1 822 700	15—17°	30 Min.	530 500	944 500	getrübt	12. X.
	17—19°	1 Stunde	7 400	665 200		11 h — 1 h
	19—20°	1 Stunde 30 Min.	840	482 000	»	wolkenloser Himmel
	20—21°	2 Stdn.	steril	341 500	klar	Frisch isolierter Stamm »Dultz«.

Typhus. Tabelle VII.

Einsaat	Temperatur	Zeit	Kolonienzahl	Kontrolle	Bouillon	Bemerkung
1 420 000	15—5°	1 Stunde	360 000	1 097 000		31. XII.
	5—1°	2 Stdn.	169 500	400 600	getrübt	12 30 — 2 30 wolkenloser Himmel

Aus diesen Tabellen ergibt sich, dafs durch Besonnung im Sommer (Juli) Choleravibrionen bei hoher Einsaat in Limonade mit einem Gehalt von 6 prom. Zitronensäure in 5 Minuten völlig abgetötet werden, auch wenn das Licht vorher eine Glaswand passiert hat, in seiner Wirksamkeit also stark abgeschwächt ist. Unter den gleichen Umständen ergibt sich für die Vernichtung des Ruhrbazillus eine Zeit von 1 Stunde, für die des Typhusbazillus eine Zeit von 1 ½ Stunden. Im Herbst (Oktober) ist die Zeit, in der die Abtötung erreicht wird, beim Ruhrbazillus dieselbe wie im Sommer, während sie beim Typhusbazillus auf 2 Stunden steigt. Im Winter (Dezember) genügen auch 2 Stunden nicht, um alle Typhusbazillen abzutöten. Die Zahl der übrig-

gebliebenen ist vielmehr so grofs, dafs anzunehmen ist, dafs der Sonnenschein eines ganzen Wintertages zu ihrer Vernichtung nicht hinreichen würde.

Wenn man berücksichtigt, dafs die vorstehenden Versuche absichtlich unter ungünstigen Bedingungen ausgeführt worden sind, (sehr hohe Einsaaten und Schwächung des Lichtes durch das Passieren einer Glaswand), so kann man hoffen, dafs in der Praxis, wo im allgemeinen günstigere Bedingungen zu erwarten sind, das Verfahren sich als brauchbar erweisen würde. Die örtlichen und zeitlichen Beschränkungen, denen das Verfahren unterliegt, machen es zu einem Notbehelf für einen Teil jener Fälle, wo die bewährten Wassersterilisierungsverfahren durch Kochen oder Durchleiten von Ozon nicht anwendbar sind. Wie eingangs erwähnt, sind solche Fälle besonders häufig im Kolonialkrieg. Da die senkrechten oder fast senkrechten Strahlen der Mittagssonne in tropischen und subtropischen Gegenden weit reicher sind an ultravioletten Strahlen als in unseren Breiten selbst im Hochsommer — wie die durch vielfache Erfahrungen festgestellte viel intensivere Wirkung auf die photographische Platte beweist — ist eine Abkürzung der Abtötungszeit in diesen Gegenden mit Wahrscheinlichkeit zu erwarten.

Für die praktische Ausführung des Verfahrens würde es sich empfehlen, die Zitronensäure in Tabletten zu 6 g mitzuführen, und die Bestrahlung der Limonade durch die Sonne in den verhältnismäfsig flachen, weiten, innen verzinnten Kochgeschirren vorzunehmen, in denen die Flüssigkeit leicht und unmittelbar von den Sonnenstrahlen durchdrungen werden kann.

Herrn Geheimen Medizinalrat Rubner spreche ich für die Anregung zu diesem Thema meinen ergebensten Dank aus.

Das Koffeinanreicherungsverfahren zum Typhusnachweis im Stuhl.

Von

Dr. C. Lubenau

Assistenzarzt des Sanatoriums Beelitz.

(Aus dem Laboratorium des Sanatoriums Beelitz (Chefarzt Dr. Pielicke) und den hygienischen Instituten der Universität Berlin (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Rubner).

Der wesentliche Vorzug des Koffeins, der dasselbe bei der Verwendung von elektiven Nährböden zum Typhusnachweis in Bakteriengemischen, z. B. im Wasser oder Stuhlgang, in den Vordergrund stellt, besteht gegenüber den dahin angewandten Mitteln der Karbolsäure, dem Jodkali und Kristallviolett darin, dafs das Koffein in erster Linie auf das Wachstum von Bacterium coli hemmend wirkt und bei einer Konzentration, die völlig ausreicht, das Wachstum von Bacterium coli zu hindern, die Typhusbazillen noch wachsen läfst. Fernerhin besitzt Koffein auch entschieden eine nicht zu unterschätzende Wirkung auf das Wachstum von Stuhlkeimen im allgemeinen.

Mit Hilfe dieses Alkaloids, dessen Wirkung auf Koli- und Fäzesbakterien Roth entdeckt hat, haben Ficker und Hoffmann ein Anreicherungsverfahren, das dem Nachweise von Typhusbakterien im Stuhlgang und Wasser dient, hergestellt. Dasselbe ist bei weitem wirksamer als die bis dahin bekannten Methoden, die im grofsen und ganzen an dem alles überwuchernden Wachstum des Bacterium coli scheiterten.

Ficker gelang es mit seinem Verfahren, bei einem Verhältnis der Typhusbazillen zu den Stuhlkeimen = 1 : 53 000 erstere noch nachzuweisen; Hoffmann erreichte, bei einem Verhältnis von Typhusbazillen zu Wasserkeimen (vermischt mit Bacterium coli) = 1 : 51 867 positive Resultate, die die mit ähnlichen bisher erzielten Methoden bei weitem übertrafen.

Späterhin hat Gähtgens das Koffein als Zusatz zu festen Nährböden, z. B. dem Endoagar, mit gutem Erfolge verwandt.

Er stellte fest, dafs ein Gehalt des Agars von 0,32—0,34% Koffein dem Nachweise der Typhusbazillen am günstigsten ist, und konnte mit einem derartigen Fuchsinagar bei Untersuchungen von verschiedenen Typhusstühlen in 60% positive Resultate erzielen, während dieses mit dem einfachen Fuchsinagar nur in 48% und mit dem Agar von Drigalski und Conradi nur in 37% der Fälle gelang.

Zu Resultaten, die von den obigen völlig abweichen, sind unter anderen Friedel, Kloumann und Reischauer gekommen.

Auf die Arbeiten der letzteren Autoren sich im wesentlichen stützend, schreibt Kutscher in dem Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann (1906) über diese von Ficker und Hoffmann angegebene »Art Anreicherungsverfahren« folgendes: »Eine eigentliche Anreicherung, d. h. effektive Vermehrung der Typhusbazillen in der Anreicherungsflüssigkeit findet nicht statt, sondern zum gröfsten Teil nur ein Zurückdrängen der Fäzesbakterien, vor allem des Bacterium coli.«

Dieses absprechende Urteil schwächt er allerdings ab, indem er zugibt, dafs unter Umständen eine nicht unerhebliche, relative Anreicherung der Typhusbazillen möglich ist, so dafs diese Methode, wo andere Verfahren versagt haben, gelegentlich mit gutem Erfolge zur Untersuchung von Fäzes herangezogen werden kann.

Es ist nicht recht klar, was der Verfasser unter einer effektiven Vermehrung der Typhusbazillen im Gegensatz zu einer relativen Anreicherung verstanden haben will.

Dafs eine Vermehrung der Typhusbazillen in der Anreicherungsflüssigkeit, absolut genommen, stattfindet, kann wohl niemand nach den erschöpfenden Versuchen von Ficker und Hoffmann, mit denen die meinigen, unten folgenden, ganz übereinstimmen, bezweifeln; auch die Mifserfolge, die Kloumann mit Koffeinbouillon hatte, ändern an dieser Tatsache nichts, von der sich auch der im quantitativen Arbeiten Ungeübte sehr leicht überzeugen kann, indem er eine geringe Menge Typhusbazillen (Platinnadel) in einem Röhrchen mit Fickers Anreicherungsflüssigkeit aussät; nach 13 Stunden resp. 20 Stunden ist eine deutliche, allmählich zunehmende Trübung sichtbar, die durch das Wachstum der Typhusbazillen hervorgerufen wird, wie ein gefärbtes Präparat leicht zeigt; vor der Bebrütung der Bouillon dagegen findet man im Präparat von einer Öse kaum vereinzelte Bazillen. Derartige Versuche, die ich mit sechs verschiedenen Typhusstämmen ausführte, hatten dasselbe positive Resultat.

Aufserdem entsprechen die Versuche von Kloumann, der schon bei 0,3% Koffein keine Vermehrung der Typhusbazillen mehr nachzuweisen vermochte, gar nicht der Versuchsanordnung von Ficker. Über die von ihm verwandte Bouillon gibt er gar nichts an; es ist anzunehmen, dafs er gewöhnliche Nährbouillon zu seinen Versuchen benutzte, die er aufserdem durch Zusatz von Koffeinlösung recht beträchtlich und ganz ungleichmäfsig verdünnt hat. Dadurch sind die Mifserfolge leicht erklärlich.

Wie sehr es auf die Zusammensetzung des Nährmediums in erster Linie ankommt, zeigt folgender Versuch:

Aussaat von 570 Typhusbazillen pro ccm.

	nach 24 Stunden
Nährbouillon + 3 prom. Koffein . . . + 0,0007 proz. Kristallviolett	11 Millionen
Fickers Bouillon + 3 prom. Koffein + 0,0007 proz. Kristallviolett . . .	56 Millionen

Warum Kloumann auch bei einer zweiten Serie von Versuchen, bei der er die Bouillon nach Vorschrift verwandt haben will, dieselben negativen Resultate bekommen hat, ist nicht zu verstehen. Dagegen sind die Resultate, die er mit einem 3—4 prom. Koffeinagar gehabt hat, durchaus nicht schlecht.

Versuche mit Typhusstuhl hat er gar nicht ausgeführt, dagegen Reischauer, der auch bei einem Verhältnis der Typhusbakterien zu Stuhlkeimen etwa = 1 : 34000 (110 Typhuskeime auf 3740000 Stuhlkeime) positive Resultate (einige Kolonien) erzielte, darüber hinaus nicht mehr.

Trotzdem verurteilt auch letzterer die Koffeinmethode, indem er berechnet, dafs die Typhusbazillen in der Anreicherungsflüssigkeit sich um das 260 fache vermehren müfsten, um die gleiche Anzahl pro ccm in der Anreicherungsflüssigkeit zu erreichen, wie in der Aussaat, während nach den Versuchen von Ficker und Hoffmann dieselben sich nur um das 10—50fache vermehren.

Bei dieser Berechnung berücksichtigt Reischauer gar nicht, dafs die Stuhlkeime um das 100fache an Zahl pro ccm zurückgehen, so dafs das Verhältnis der Typhusbazillen zu den Stuhlkeimen sich um das 1000fache günstiger gestaltet wie vor der Anreicherung.

Auf dieses Verhältnis der Typhuskeime zu den Stuhlkeimen kommt es bei der Anreicherung aber ganz allein an, so dafs das Verfahren allerdings nur in diesem Sinne als eine relative Anreicherung bezeichnet werden könnte, wie es auch Reischauer — abgesehen von dem Irrtum, in den er mit seiner Berechnung gerät, — richtig aufzufassen scheint, während Kloumann, allerdings auf Grund völlig unzulänglicher Versuche, die Vermehrung der Typhusbazillen überhaupt leugnet und die Anreicherung **nur** auf ein Zurückgehen der Stuhlkeime zurückführt.

Die Berechnung von Reischauer kann überhaupt nur bei keimarmen Stühlen Gültigkeit beanspruchen, in welchen Fällen der Mangel wieder dadurch vollkommen ausgeglichen wird, dafs man aus der Anreicherungsflüssigkeit infolge Rückganges der

Stuhlkeime bedeutend gröfsere Flüssigkeitsmengen aussäen kann wie direkt aus dem Stuhl.

Für solche Fälle genügt aufserdem vollkommen das bisher geübte Plattenverfahren; während das Koffeinverfahren, das allerdings eine ganz bedeutende Mehrarbeit in sich schliefst, sich als die souveräne Methode bei der Untersuchung von Stühlen bewährt hat, die sich durch reichlichen Gehalt von Fäzeskeimen bis 100 Millionen mit relativ geringer Anzahl von Typhuskeimen auszeichnen, in welchen Fällen man bisher gar nicht denken durfte, die Typhuskeime auffinden zu können.

Auf die Arbeit von Friedel näher einzugehen erübrigt sich; derselbe macht überhaupt keine näheren Angaben über seine Versuche, sondern begnügt sich mit der Mitteilung, dafs er bei dem Verfahren von Ficker und Hoffmann nicht den »Eindruck« einer wirklichen (?) Anreicherung der Typhusbazillen gehabt habe.

Es soll keineswegs bestritten werden, dafs der Koffeinmethode noch mancherlei Mängel anhaften, z. B. das Einhalten der Zeit von 13 Stunden ist umständlich; auch verlangt dasselbe bedeutend mehr Übung und Genauigkeit im Arbeiten wie das übliche Plattenverfahren. Indes müssen die bisher erzielten Resultate nur dazu ermutigen, das Verfahren zu vervollkommnen, was allerdings erst durch umfangreiche Erprobung desselben in der Praxis geschehen kann.

Die folgenden Versuche stellen einen weiteren Ausbau des Koffeinverfahrens dar und zwar zunächst mit Berücksichtigung der Tatsache, dafs nach einer längeren Zeit als 13 Stunden die Chancen des Auffindens von Typhuskolonien sich wesentlich verschlechtern, da die Anreicherungsflüssigkeit allmählich an Wirksamkeit abnimmt und infolgedessen die Stuhl- und Kolikeime wieder lebhafter zu wuchern scheinen. Bei einer Lösung von Kristallviolett in Bouillon, die man in hohe Glaszylinder gibt, kann man z. B. beobachten, dafs in dem Grade, wie die Bouillon sich entfärbt, dieselbe an Trübung zunimmt und am Boden des Zylinders ein 3—4 mm hoher blauer Bakterienniederschlag sich bildet, der sich erst allmählich später entfärbt.

Einen ähnlichen Vorgang des Verbrauchs des Mittels durch die Bakterien hat Nowack für das Malachitgrün festgestellt.

Daher wurden zunächst Versuche unternommen, durch Zusatz frischer Anreicherungsflüssigkeit nach je 13 Stunden das Wachstum der Typhusbakterien gegenüber den Stuhlkeimen zu heben.

Auch die eben erwähnte Tatsache, dafs die unbeweglichen Stuhlkeime, indem sie bei der Wucherung Rasen und Flocken bildend zu Boden sinken, wurde dadurch nutzbar gemacht, dafs das Anreicherungsverfahren in hohen Glaszylindern vorgenommen wird, um die Sedimentierung zu begünstigen; die lebhaft beweglichen Typhuskeime müssen sich dann in der oben stehenden Bouillon leichter auffinden lassen. Zu diesem Zweck war zuerst festzustellen, bis zu welcher Konzentration der Koffeingehalt der Bouillon steigen darf, ohne dafs die Beweglichkeit der Typhusbazillen dadurch geschädigt wird.

Die folgende Tabelle gibt darüber Aufschlufs:

nach	13 Stdn.	26 Stdn.	40 Stdn.
Fickers Bouillon (= F. B.) ohne Koffein und Kristallviolett . .	Bewegl. gut kurze Fäden	Bewegl. gut kurze Fäden	Bewegl. gut kurze Fäden
F. B. + 3 prom. Koffein . . .	Bewegl. gut lange Fäden	Bewegl. sehr lebhaft lange Fäden	Bewegl. geringer lange Fäden
F. B. + 6 prom. Koffein . . .	Bewegl. schw. kurze Fäden	Bewegl. schw. lange Fäden	unbeweglich lange Fäden
F. B. + 3 prom. Koffein + 0,0007 proz. Kristallviolett	Bewegl. gut lange Fäden	Bewegl. gut lange Fäden	Bewegl. gut lange Fäden
F. B. + 6 prom. Koffein + 0,0007 proz. Kristallviolett	Bewegl. schw. lange Fäden	Bewegl. schw. lange Fäden	unbeweglich lange Fäden

Ein Gehalt von 3 prom. Koffein ist demnach für die Beweglichkeit der Typhusbazillen am günstigsten; dieselben scheinen sogar in einem derartigen Medium lebhaftere Lokomotion zu zeigen als in einfacher Bouillon ohne Koffeinzusatz. Ein Kristallviolettzusatz von 0,0007 % scheint die Beweglichkeit schon etwas zu beeinträchtigen.

Die schon bekannte Tatsache, dafs die Typhusbakterien durch Koffein zur Bildung langer Fäden veranlafst werden, wurde

auch hier beobachtet; nichtsdestoweniger können dieselben recht gut beweglich sein.

Es war noch zu bestimmen, ob eine Konzentration von 3 prom. Koffein genügen wird, um das Wachstum der Koli- und Stuhlkeime hinreichend zu hemmen.

Gähtgens hatte mit einem Gehalt von 3 prom. Koffein günstige Resultate erzielt; auch die folgende Tabelle spricht dafür, dafs ein solcher Koffeingehalt genügt, da noch zu erwägen ist, dafs durch die Sedimentierung ein grofser Teil der Stuhlkeime ausgeschaltet wird, so dafs der geringe Koffeingehalt der Bouillon sich ausgleicht; im Gegenteil wird dadurch noch ein Vorteil geschaffen, dafs die Typhusbakterien bei schwächerem Koffeingehalt sich lebhafter vermehren werden.

Gleichmäfsige Aufschwemmung von Typhus, Koli und Stuhl in Bouillon, davon wurden 0,1 ccm auf Agar mit wechselndem Koffeingehalt ausgesät.

	Typhus				Koli				Stuhl			
nach	10 Std.	20 Std.	30 Std.	40 Std.	10 Std.	20 Std.	30 Std.	40 Std.	10 Std.	20 Std.	30 Std.	40 Std.
Koffein 3‰	sehr gering	mäßig gut	gut	gut	gering	mäßig	gut	gut	—	mäßig	mäßig	gut
„ 4‰	—	gering	gut	gut	gering	mäßig	gut	gut	—	mäßig	mäßig	gut
„ 5‰	—	sehr gering	mäßig	mäßig gut	sehr gering	mäßig	mäßig gut	gut		gering	gering	mäßig
„ 6‰	—	sehr gering	gering	mäßig	sehr gering	gering	gering	mäßig	—	gering	gering	mäßig
Nähragar ohn. Koffein	gering	gut	sehr gut	sehr gut	sehr gut	sehr gut	sehr gut	sehr gut	gering	sehr gut	sehr gut	sehr gut

Demnach genügt schon ein Gehalt von 3 prom. Koffein, um die Stuhlkeime sowohl wie Koli hinreichend im Wachstum zu hemmen.

Die folgende Tabelle, in der die Resultate durch Auszählen der Kolonien wiedergegeben werden, liefert noch ein präziseres Beispiel.

	Typhus	Koli	Stuhl
		pro ccm	
Aussaat von	6 500 000	19 000 000	21 900 000
F. B.[1]) + 3 prom. Koffein nach 20 Stunden . .	618 000 000	473 000 000	615 000 000

1) F. B. = Fickers Bouillon.

Hiernach haben sich die Typhusbakterien innerhalb von 20 Stunden ca. um das 100fache, Koli dagegen nur um das 25fache und die Stuhlkeime um das 30fache vermehrt. Da das Wachstum der Bakterien in geometrischer Progression rasch ansteigt, so würde das bedeuten, dafs schon bei 6maliger Generation das Verhältnis von Typhuskeimen zu Koli gleich sein müfste wie 1 : 270, von Typhuskeimen zu Stuhlbakterien wie 1 : 723.

Solche Resultate sind natürlich noch kein Beweis für die Verhältnisse in praxi, sondern können nur einen ungefähren Anhalt für spätere Versuche liefern. Es ist daher auch ratsamer, alsbald in die Prüfung der praktischen Verhältnisse zu treten, die schon insofern abweichend sind, als es sich hier um Bakteriengemische handelt, wobei auch der Verbrauch des Nährsubstrates und andere Umstände unvorgesehene Einflüsse ausüben.

Bevor die bei den Versuchen mit Typhusstühlen erzielten Resultate mitgeteilt werden, müssen noch einige Bemerkungen über den Untersuchungsmodus gemacht werden, auf deren Beachtung besonders Wert zu legen ist.

Die Anreicherungsflüssigkeit, die benutzt wurde, hatte die Zusammensetzung der Fickerschen Bouillon (s. Originalartikel), indes statt 6prom. nur 3prom. Koffein; der Kristallviolettgehalt war derselbe wie bei Ficker; 100 ccm dieser Anreicherungsflüssigkeit kommen in Glaszylinder, die man unter Berücksichtigung der Mafse des Brutschrankes möglichst hoch und schmal wählt, um die Sedimentierung der Stuhlkeime zu begünstigen. Die von mir verwandten Glaszylinder hatten eine Höhe von 38 cm; sie müssen ungefähr 350 ccm fassen können und werden vorher eine Stunde lang im strömenden Wasserdampf sterilisiert.

Jedesmal nach 13 Stunden wird in die Zylinder frische Anreicherungsbouillon mit Koffein 3 ‰ und Kristallviolett 0,0007 % gegeben; um das Volumen der Anreicherungsflüssigkeit mit Rücksicht auf die Höhe der Glaszylinder nach Möglichkeit einzuschränken, löste ich das Koffein (0,3 g auf einer feinen, chemischen Wage genau abgewogen) direkt in 100 ccm Bouillon;

die Lösung geht bei dieser Konzentration auch in der Kälte rasch vor sich. Von dem Kristallviolett wurde eine entsprechende Lösung in kaltem, destilliertem Wasser 0,1 : 100,0 hergestellt und hiervon 0,7 ccm auf 100 ccm Bouillon gegeben (also 0,0007 % Kristallviolett).

Der erforderliche Typhusstuhl wurde durch künstliche Mischung von Typhusbakterien mit dünnem Fäzes hergestellt. Fehlerquellen wurden bei der Herstellung des Stuhles nach Möglichkeit vermieden. Dieselbe gestaltete sich folgendermafsen:

Dünne Fäzes von der Beschaffenheit eines diarrhöischen Stuhles werden durch mehrfache Lagen Filtriergaze gelassen, um gröfsere Partikelchen, Flocken etc., die den Keimgehalt ganz wesentlich verändern, auszuschalten.

Die Zahl der Fäzeskeime wird durch Auszählen auf Platten bestimmt, desgleichen die einer 24 stündigen lackmusneutralen Bouillonkultur von Typhus.

Da das Resultat erst nach 24 Stunden vorliegt, setzt man rechtzeitig eine zweite Typhusbouillonkultur an, die nach 24 Stunden Bebrütungsdauer erst eigentlich zur Mischung dient. Wenn man die Bouillonröhrchen (von absolut gleicher Neutralisierung etc.) auf eine bestimmte Menge, etwa 10 ccm, genau abmifst, kann man darauf rechnen, dafs bei gleicher Bebrütungsdauer (24 Stunden) auch die Zahl der Typhuskeime annähernd dieselbe ist; indes kann die erste Zählung nur einen ungefähren Anhalt für die Mischung geben, deren richtiges Verhältnis durch abermaliges Auszählen, auch der zweiten Typhusbouillonkultur, festzustellen ist.

Die Zahl der Keime im Stuhl hält man sich dadurch konstant, dafs derselbe bis zur Mischung in den Eisschrank gestellt wird; in der Tat verändert sich die Zahl der Keime im frischen Stuhlgang kaum, indes wird man sich auch hier durch abermaliges Auszählen des Stuhles nach der Mischung von der Richtigkeit des Verhältnisses überzeugen.

Die Verdünnungen der Typhusbouillon wurden durch vorsichtiges Schwenken des Erlenmeyerkölbchens, das man in der bekannten Weise auf der Tischplatte in drehender Bewegung

etwa eine Minute lang gleiten läfst, hergestellt; die Mischung des Typhusstuhles erfolgt am besten mit Glasstab eine Minute lang und abermaliges Schwenken eine Minute lang. Als Verdünnungsflüssigkeit diente physiologische Kochsalzlösung.

Die Flüssigkeitsmengen wurden mit auf $^1/_{10}$ ccm genau kalibrierten Pipetten abgemessen.

Das Koffein (chemisch rein) wurde von Kahlbaum-Berlin bezogen.

Es wurden bei jedem Anreicherungsversuch 0,8—1,0 ccm Stuhl in die Bouillon ausgesät.

Als Plattennachkultur diente ein Lackmusmolkenagar, der, mit Rindfleischwasser hergestellt, 2—3 proz. Agar, 3 proz. Pepton, 1 proz. Kochsalz, 50 proz. Lakmusmolke und 3 prom. Koffein erhält; eine genaue Beschreibung der Herstellung dieses Agars erfolgt am Schlufs. Auf demselben wachsen schon nach 24 Stunden die Typhuskeime zu grofsen, grauen oder leicht milchig getrübten Kolonien aus, die sich auf dem mattblauen, völlig klaren Grunde von den rosig gefärbten Kolikolonien, besonders bei durchfallendem Lichte, aufs schärfste abheben, wodurch das Auffinden derselben ganz aufserordentlich erleichtert wird.

Die Wahl dieses Agars wurde durch den Umstand veranlafst, dafs, wie zahlreiche Versuche ergeben haben, und aus einer unten folgenden Zusammenstellung ersichtlich ist, auf ihm die Typhuskeime, die das Anreicherungsverfahren passiert haben, bei weitem besser heranwuchsen als auf dem Drigalski-Konradischen Agar, der ja wohl wegen seines hohen Gehaltes an Kristallviolett (0,01 %) für Typhusbazillen keineswegs indifferent ist; auch andere Nährböden, z. B. der von Endo und von Leuchs, desgleichen die Malachitgrüngelatine von Löffler haben sich hierzu nicht bewährt (auf Letzterer noch nach 3 Tagen kein Wachstum).

Bei der ersten Reihe der Versuche, bei der es mir in erster Linie darauf ankam, genau das Verhältnis der Typhuskeime zu den Stuhlkeimen nach der Bebrütung in der Anreicherungsflüssigkeit festzustellen, wurden nur geringe Mengen der letzteren (1 ccm mit 100000 Wasser verdünnt, davon $^1/_{10}$ bis $^2/_{10}$ ccm auf den Platten ausgesät.

Bei der zweiten Hälfte der Versuche wurde von der Bestimmung dieses Verhältnisses der Keime abgesehen und jedesmal 3 Serien mit 3 — 4 Platten angelegt; auf jede Serie kam eine Aussaat von $^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$ ccm Anreicherungsbouillon. (Genaueres s. z. Schlufs.)

Der erste Versuch, der mit dem Typhusstamm Gelsenkirchen = X. angestellt wurde, lieferte für die Brauchbarkeit der neuen Methode einen guten Beweis; bei einem Verhältnis von Typhus zu Koli = 1 : 500000 gelang der Nachweis von Typhuskolonien nach den ersten 13 Stunden noch nicht; jedoch konnten nach dem ersten Zusatz frischer Anreicherungsflüssigkeit und abermaligem 13stündigen Bebrüten Typhuskolonien nachgewiesen werden, die nach einem zweiten Zusatz frischer Bouillon noch beträchtlich an Zahl zunahmen.

Typhus X = 1 : 50000.

Bebrütungszeit	
13 Stunden . .	nur Fäzes.
26 Stunden . .	Fäzes dicht.
1. Zusatz . . .	Ty 6 Kolonien.
40 Stunden . .	pro ccm 200000000 Fäzes
2. Zusatz . . .	» » 40000000 Ty.

Demnach hatte sich das Verhältnis von Typhus zu Fäzes von 1 : 50000 in 1 : 5 umgewandelt.

Ty : Fäzes = 1 : 50000.

Bebrütungszeit	Typhus K.	Typhus Moabit
13 Stunden . .	Fäz.[1]) ∞	Fäz. ∞
	Ty.[1]) 1	Ty. 1
26 Stunden . .	Fäz. ∞	Fäz. ∞
1 Zusatz . . .	Ty. 1	Ty. 0
40 Stunden . .	Fäz. ∞	Fäz. ∞
2. Zusatz . . .	Ty. 8	Ty. 1

Infolge zu dichter Aussaat überwucherten bei den beiden letzten Versuchen die Stuhlkeime, so dafs die Platten nicht ausgezählt werden konnten.

1) Fäz. = Fäzeskolonien. Ty. = Typhuskolonien.

Ty. : Fäzes = 1 : 125 000. Typhus X.

Bebrütungszeit	Fäzes	Typhus
13 Stunden	pro ccm 24 000 000	—
26 Stunden (1. Zusatz) . .	» » 40 000 000	5
40 Stunden (2. Zusatz) . .	» » 110 000 000	1

Ty. : Fäz. = 1 : 625 000.

Bebrütungszeit	Drigalski Agar	Endoagar	Lackmusagar + 3 prom. Koffein
	pro ccm		
13 Stunden . .	Fäz. 60 000 000	Fäz. ∞	Fäz. 90 000 000
	Ty. 1 000 000	Ty. 0	Ty. 0
26 Stunden . .	Fäz. 95 000 000	Fäz. ∞	Fäz. 104 000 000
1. Zusatz . . .	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 2 000 000
40 Stunden . .	Fäz. 105 000 000	Fäz. 780 000 000	Fäz. 206 000 000
2. Zusatz . . .	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 1 000 000

Typhus Moabit. Ty. : Fäz. = 1 : 700 000.

Bebrütungszeit	Drigalski	Lackmusagar + 3 prom. Koffein
	pro ccm	
13 Stunden	Fäz. 6 000 000	Fäz. 82 000 000
	Ty. 0	Ty. 0
26 Stunden	Fäz. 92 000 000	Fäz. 80 000 000
1. Zusatz	Ty. 0	Ty. 3 000 000
40 Stunden	Fäz. 30 000 000	Fäz. 85 000 000
2. Zusatz	Ty. 0	Ty. 3 000 000

Diesen überaus günstigen Resultaten standen nur relativ wenig Mifserfolge gegenüber; daher wurde gleich mit den 5 zu Gebote stehenden Typhusstämmen im Verhältnis Ty : Fäz = 1 : 1 Million ein Versuch angestellt. Derselbe fiel indes im wesentlichen negativ aus, nur Typhus Moabit, der sich auch schon vorher als kräftig wachsend erwiesen hatte, lieferte ein positives Resultat.

Bebrütungszeit	X	Val.	Ra.	151	Moabit.
13 Stunden	Fäz. ∞	Fäz. ∞	Fäz. ∞	Fäz. ∞	Fäz. ∞
	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 0
26 Stunden	Fäz. 120 000 000	Fäz. 132 000 000	Fäz. 114 000 000	Fäz. 150 000 000	Fäz. 240 000 000
1. Zusatz .	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 0
40 Stunden	Fäz. ∞	Fäz. 120 000 000	Fäz. ∞	Fäz. 210 000 000	Fäz. 219 000 000
2. Zusatz .	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 0	Ty. 1 000 000

Für das Fehlschlagen dieses Versuches war eine Erklärung schwer zu finden. Man mufste schliefslich annehmen, dafs der Kristallviolettzusatz zur Anreicherungsflüssigkeit die Beweglichkeit der Typhusbazillen, auf die bei dieser Methode alles ankommt, stärker beeinträchtigt, anderseits dafs das Koffein von den Bakterien innerhalb von 13 Stunden vollkommen verbraucht wird, so dafs nunmehr die Zusatzbouillon einen entsprechend höheren Koffeingehalt, das erste Mal 6‰, das zweite Mal 9‰ erhielt, während bei den ersten Versuchen die Anreicherungsflüssigkeit mit ein und derselben Konzentration (3‰ Koffein) zugesetzt wurde. Das Kristallviolett wurde ganz weggelassen.

Auch wurden jetzt grofse Mengen der Bouillon, $^1/_{10}$ — $^1/_{20}$ ccm, auf je 3 Plattenserien ausgesät und von einer Auszählung der Platten abgesehen, da das Schwanken der Resultate lehrte, dafs die Berechnung des möglichen Verdünnungsgrades aus den gewonnenen Resultaten durchaus nicht bindend ist.

Bei derartiger Änderung des Untersuchungsmodus gelang es noch, mit zwei weiteren Typhusstämmen, K. und 151, bei einer Verdünnung von etwa 1 : 1 Million je ein positives Resultat zu erzielen.

Bebrütungszeit	Typhus R. 1 : 980 000	Typhus 151 1 : 1 010 000
13 Stunden . . .	Fäz. ∞	Fäz. ∞
	Ty. 1	Ty. 1
26 Stunden . . .	Fäz. ∞	Fäz. ∞
1. Zusatz	Ty. 0	Ty. 1
40 Stunden . . .	Fäz. ∞	Fäz. ∞
2. Zusatz	Ty. 0	Ty. 0

Im Durchschnitt fallen bei dem Mischungsverhältnis Typhus 1 zu 1 Million Fäzeskeime auf 1 positives Resultat fünf Mifserfolge; dieser Umstand veranlafste zu Versuchen mit Zusatz von Jodkali oder Malachitgrün zur Anreicherungsbouillon, die 3 ‰ Koffein aufserdem beibehielt.

Es ist denkbar, dafs unter den Stuhlkeimen sich Arten finden, gegen die das Koffein — ähnlich wie gegen Typhusbakterien — unwirksam ist, was vielerseits, z. B. von Kloumann, auch in bezug auf die alkalibildenden Arten des Stuhles behauptet wird.

Jodkali wurde von Elsner als Zusatz (1 %) zu einer Kartoffelgelatine für den Typhusnachweis empfohlen; auf diesem Nährboden hatte Elsner ein gutes Eindämmen der Stuhlkeime beobachtet. Ein Versuch mit diesem Mittel fiel indes, wie schon Ficker beobachtete, völlig negativ aus. Abgesehen davon, dafs durch einen Gehalt der Bouillon von 1 % Jodkali die Stuhlkeime im Wachstum kaum beeinflufst werden, wird die Beweglichkeit der Typhusbazillen durch Jodkali in solcher Konzentration nicht unerheblich beeinträchtigt.

Bebrütungsdauer 24 Stunden	Typhus	Stuhl
Aussaat pro ccm	570 Keime	5 100 Keime
Fickers Bouillon + Jodkali 0,25 %	47 Millionen (lebhaft bewegl.)	1 000 Millionen
» » » 0,5 %	73 Millionen (lebhaft bewegl.)	1 170 »
» » » 1,0 %	76 Millionen (gering beweglich)	912 »

Auch Variationen mit dem Gehalt an Kristallviolett führten zu keinem Ziele.

	Typhus	Stuhl
Aussaat pro ccm	570 Keime	5 100 Keime
Fickers Bouillon + Kristallviolett 0,001 %	1 Million	316 Millionen
0,005 %	2—4 Tausend	260 »
0,01 %	1—2 Tausend	12 »

Es zeigt sich, dafs schon bei einem Gehalt von 0,001 % Kristallviolett die Typhuskeime stark geschädigt werden können, dagegen die Stuhlkeime (und das ist das Wesentlichste bei diesem Versuche) ein nahezu 40 mal stärkeres Wachstum entwickelten; bei 0,01 %, welche Konzentration für den Nährboden von Drigalski Vorschrift ist, vermehrte sich Typhus nur um das 10 fache, Fäzes dagegen um das 1500 fache.

Hand in Hand damit sistiert die Beweglichkeit der Typhusbazillen nahezu vollkommen.

Das Auslassen des Kristallvioletts bei der zweiten Reihe der Versuche konnte daher nur eher Nutzen wie Schaden bringen.

Das Malachitgrün wurde zuerst von Löffler zur Verwendung bei elektiven Typhusnährböden empfohlen. Er verwandte die Marke Malachitgrün 120 Höchst.

Nach den Erfahrungen von anderen Autoren, z. B. Nowack und Leuchs, eignet sich dasselbe zu einem derartigen Zwecke weniger, da der Dextringehalt des Malachitgrün 120 durch Säurebildung die Wirkung desselben ganz erheblichen Schwankungen unterwirft.

Nowack und Leuchs empfahlen daher für elektive Typhusnährböden den rein hergestellten Farbstoff, z. B. Malachitgrünkristalle extra Höchst, der in seiner Wirkung auch nach erfolgter Lösung völlig konstant bleibt.

Leuchs erzielte mit einem solchen Agar bei Versuchen, die er allerdings nur mit Reinkulturen verschiedener Stuhlkeime ausführte, sehr günstige Resultate. Auch die Untersuchung von zwei natürlichen Typhusstühlen fiel überaus günstig aus.

Leider enthielt die Arbeit keine zahlenmäfsigen Angaben über das Wachstum von Typhus- und Stuhlkeimen.

Über die Wirkung dieses Mittels in Fickers Bouillon gibt folgende Zusammenstellung in Vergleich mit 3 prom. Koffeinbouillon Aufschlufs.

Aussaat von 6 500 000 Typhuskeimen pro ccm
» » 19 000 000 Kolikeimen » »
» » 21 900 000 Stuhlkeimen » »
bebrütet 20 Stunden.

Malachitgrünkristalle extra	Typhus	Koli	Stuhl
0,001 %	81 Millionen Bew. beeinträch.	135 Millionen	1050 Millionen
0,0005 % + 3 prom. Koffein	164 Millionen Bew. beeinträch.	170 Millionen	659 »
Koffein 3 ‰	618 Millionen sehr lebh. bew.	473 Millionen	615 Millionen

Obiger Versuch zeigt, daſs das Malachitgrün selbst in einer Konzentration von 0,001 % und 0,0005 % (Leuchs empfiehlt für seinen Agar 0,0016 — 0,0018 %) für das Anreicherungsverfahren gar nicht brauchbar ist. Dasselbe besitzt zwar einen stark hemmenden Einfluſs auf das Wachstum von Koli, noch mehr und zwar fast um das Doppelte schädigt es die Typhusbakterien, so daſs sich unter seinem Einfluſs die Wachstumsenergie beider Bakterienarten ganz erheblich zuungunsten von Typhus ändert. Dagegen ist sein Einfluſs auf die Stuhlkeime ein auſserordentlich geringer, so daſs sich dieselben um mehr als das Zehnfache wie Typhus vermehren können.

Auſserdem wird die Beweglichkeit der Typhusbazillen schon durch einen Gehalt von 0,0005 proz. Malachitgrün beeinträchtigt.

Auch als Nachkultur bei dem Anreicherungsverfahren eignet sich der Agar von Leuchs wenig, was schon aus den eigenen Angaben des Autors hervorgeht, der die Typhuskolonien nach 24 stündigem Wachstum als kleine, wassertropfenähnliche Kolonien beschreibt.

Erwähnen will ich nur noch, daſs man auf diesem Agar durch Zusatz von Milchzucker (1 % etwa) die Kolikolonien kenntlich machen kann; da der Agar bei alkalischer Reaktion abblaſst, bei Säurebildung die Grünfärbung aber zurückkehrt. Die Kolikolonien heben sich auf einem derartigen Agar als dunkelgrüne Kulturen gegen die blassen Typhuskolonien sehr scharf ab.

Diese letzten, im ganzen unfruchtbaren Versuche mit Jodkali, Kristallviolett und Malachitgrün haben demnach in eklatanter Weise die überlegene Wirksamkeit des Koffeins dargetan.

Durch die günstigen Resultate, die bei dem Anreicherungsverfahren erzielt wurden, ist auch die Beweiskette für die Brauchbarkeit dieser Methode in praxi geschlossen.

Zusammenfassung der Methode.

1. Fickers Bouillon (s. Originalartikel).
2. Koffein chemisch rein von Kahlbaum-Berlin.
3. Glaszylinder von 350 ccm Inhalt und 38 cm Höhe.
4. Lackmusmolkenagar + 3 prom. Koffein.
5. Sterilisierte lange Glasstäbe und Pipetten (auf $^1/_{10}$ ccm genau Gewicht).

Anstellung des Versuches.

In 100 ccm steriler Anreicherungsflüssigkeit werden 0,3 g Koffein (genau auf chemischer Wage unter aseptischen Kautelen abgewogen) in der Kälte gelöst; hierauf kommt die Lösung in einen sterilen Glaszylinder und wird mit 1,0 ccm Stuhlgang, der eventuell in steriler Reibschale mit physiologischer Kochsalzlösung zu verdünnen ist, besät. 13 Stunden lang bei 37° bebrüten.

Nach 13 Stunden Zusatz frischer Anreicherungsflüssigkeit (100 ccm) + 6 prom. Koffein, gelöst wie oben; Umrühren mit sterilem Glasstab.

Weitere 13 Stunden bei 37° bebrüten.

Danach (also nach 26 stündiger Bebrütungsdauer im ganzen) erste Aussaat auf 3 Serien mit je 3—4 Drigalskischalen Lackmusmolken-Koffein-Agar von $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ ccm Anreicherungsflüssigkeit auf jede Serie (je nach der Zahl der Keime $^1/_{10}$ oder $^1/_{20}$ ccm, über diesen orientiert man sich im hängenden Tropfen.)

Sodann abermaliger Zusatz frischer Anreicherungsflüssigkeit + 9 prom. Koffein; Umrühren mit Glasstab. Weitere 13—14 Stunden bei 37° bebrüten und Aussaat auf 3 neue Serien von Nachkulturplatten wie oben.

Herstellung des Lackmusmolkenagars.

500 g gemahlenes Rindfleisch werden mit 1 l destilliertes Wasser $^1/_2$ Stunde gekocht; Filtrieren; Auffüllen auf 1 l, Zusatz von 10 g Kochsalz, 60 g Pepton, 40—60 g Agar; Lösen im Salzbad, Neutralisieren auf Lackmus, Aufkochen, Filtrieren, Sterilisieren. Zu diesem sterilen heifsen Agar werden 900 ccm steriler Lackmusmolke zugesetzt, gut mischen, abkühlen lassen, Zusetzen von 110 ccm einer 6 proz. Koffeinlösung; gut mischen; Platten giefsen.

Statt der Lackmusmolke läfst sich auch Lackmustinktur ca. 60 cm auf 1 Liter Agar (mit 3 prom. Pepton, 2 bis 3 proz. Agar, 0,5 proz. Kochsalz) und 0,5 proz. Milchzucker (hergestellt mutatis mutandis wie bei Drigalski) verwenden.

Ich benützte einen geringeren Milchzuckergehalt wie Drigalski, der 1,5% nimmt, da durch die diffundierende Säure die Typhuskolonien gehemmt zu werden scheinen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Rubner sowohl für den erhaltenen Arbeitsplatz, als auch für die Anregung zur Arbeit meinen ergebensten Dank zu sagen. Herrn Professor Ficker, sowie Herrn Dr. Pielicke bin ich für die Förderung der Arbeit und ihre liebenswürdigen Ratschläge desgleichen zu ergebenem Danke verpflichtet.

Literatur.

Roth, Hygien. Rundschau 1903, Nr. 10.
Ficker und Hoffmann, Archiv f. Hygiene, Bd. XLIX.
Gähtgens, Zentralbl. f. Bakt., 1905, Bd. 39.
Kloumann, Zentralbl. f. Bakt., 1904, Bd. 36.
Reischauer, Zentralbl. f. Bakt., 1905, Bd. 39.
Nowack, Archiv f. Hygiene, 1905, Bd. 53.
Leuchs, Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 53.
Elsner, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 21.
Friedel, Zeitschr. f. Medizinalb., 1905.

Über einen in biologischer Beziehung interessanten Kolistamm (Bacterium coli mutabile).

Ein Beitrag zur Variation bei Bakterien.

Von

Rudolf Massini,

früheren Assistenten der bakteriologischen Abteilung.

(Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich.)

Mit einer Tafel.

Mit Beobachtungen über Variabilität von Bakterien in die Öffentlichkeit zu treten, scheint heutzutage für einen Bakteriologen verwunderlich. Die Zeiten sind noch nicht so lange vorbei, da an eine Umwandlung der Bakterienart in eine andere oder an eine autochtone Entstehung von pathogenen Mikroorganismen aus Saprophyten geglaubt wurde. Aber alle Versuche, welche dies beweisen sollten, haben sich als nicht stichhaltig herausgestellt. Die meisten derartigen Untersuchungen wurden zu einer Zeit ausgeführt, da es infolge der jungen, noch primitiven Methodik überhaupt noch nicht gelang, einzelne Arten sicher von anderen zu trennen. Es ist klar, dafs, wenn man von Varietäten reden will, man zuerst feststehende genau umschriebene Arten haben mufs, von welchen dann die veränderten neuen Formen als neue wieder konstant bleibende Formen abzweigen können. Auf diese ersten verfrühten Versuche will ich nicht näher eintreten. Da die ersten Versuche aber durch Vermischung und Identifizierung mühsam voneinander getrennter Arten grofses Unheil anrichteten, besonders bei der Berühmtheit einiger ihrer Verfechter (Billroth, Naegeli), bildete sich nach ihrer Überwindung eine entgegengesetzte Richtung aus. Man sucht zu trennen, wo immer nur möglich,

und seit uns die Natur durch ihre Immunprodukte so feine Reagentien in die Hand gegeben hat, werden auch diese in ausgiebiger Weise benutzt. Diese Tendenz besteht ganz zu Recht, denn es ist meist leichter Arten wieder zusammenzuführen, als solche voneinander zu trennen. Es müssen in der Bakteriologie alle Eigenschaften, auch biologische, sofern sie nur konstant sind, für ein Bacterium zu seiner Identifizierung hinzugezogen werden. Es sind daher in der letzten Zeit nur ganz wenige Versuche gemacht worden, Variationen nachzuweisen und diesen wenigen Versuchen wird gröfstes Mifstrauen entgegengebracht und zwar mit voller Berechtigung, denn nirgends findet sich die nötige Garantie für die dauernde Reinheit und Einheit der Kultur. Diese ist aber das erste Erfordernis, wenn Versuche über Varietätenbildung angestellt werden sollen. Jeder, der lange Kulturen weiter gezüchtet hat, weifs, wie leicht Verunreinigungen auch bei der gröfsten Sorgfalt vorkommen; wie ein Meningokokkus oder Gonokokkus allmählich scheinbar Gram-positiv wird, wenn ein harmloser aber resistenterer Luftkeim oder ein im Ascitesagar schlummernder Keim sich im Laufe der Generationen die Herrschaft über den schwächeren Gram-negativen Kokkus erobert. Besonders schwierig ist, wie schon M. Neisser(10) aufmerksam macht, verwandte Arten wie Diphtheriebazillen und Pseudodiphtheriebazillen oder Xerosebazillen voneinander zu trennen. Es kann also allen diesen Versuchen nicht genug Kritik entgegengebracht werden und alle Versuche, welche nicht durch beständige Isolierung und beständiges Ausgehen von einer Kolonie die Reinheit kontrollieren, können nicht als beweisend für eine Aberrationsbildung gelten. Die Kritik an der Reinheit der Kultur wird um so mehr herausgefordert, wenn es sich um Umzüchtungen bei überall verbreiteten Formen, z. B. Kokken, handelt.

Bevor ich an die Darlegung meiner eigenen Beobachtungen gehe, sei es mir gestattet, in kurzem über die letzten Arbeiten über Varietätenbildung zu berichten. Da es bekannt ist, dafs schon unter gewöhnlichen Laboratoriumsbedingungen die Farbstoffproduktion gewisser Bakterien sehr verschieden stark ausgebildet ist, und da man in der Farbe einen zugleich quantitativ

und qualitativ bequemen Index hatte, so wandten sich die meisten Untersucher dem Studium der farbstoffbildenden Bakterien zu. Es handelte sich darum, diese natürlich auftretenden neuen Formen zur Züchtung von festen Arten zu verwenden, und da man dieselben willkürlich erhalten wollte, mufsten auch die Bedingungen, unter denen Farbbildung überhaupt auftrat, studiert werden. So beschrieb R. Neumann(9) wie es ihm gelungen sei, aus einem Micrococcus pyogenes α aureus eine gelbe und eine weifse Rasse zu züchten, welche sich vom natürlich vorkommenden Micrococcus citreus und albus nicht unterscheiden liefsen. Aufserdem erhielt er eine Rosa-Varietät, aus welcher er wieder die orangefarbene Form erhalten konnte.

Ruczicka(15) berichtet über Annäherung des Bacillus pyocyaneus an den Bacillus fluorescens liquefaciens. Ruczicka züchtete drei Stämme Bacillus pyocyaneus und drei Bacillus fluorescens. Die drei Pyocyaneus-Stämme waren aus Eiter gewonnen und hatten daher die Eigenschaften echter Parasiten; sie lieben hohe Temperaturen, bilden darin mehr Farbe und wachsen üppiger als bei tiefen Temperaturen, während die aus dem Wasser gezüchteten Fluorescenzstämme niedere Temperaturen bevorzugen. Die Farbe der Pyocyaneusstämme hat eine mehr grünblaue, die der Fluorescenzstämme eine mehr gelbgrüne Nuance. Die übrigen Eigenschaften: Fähigkeit, die Gelatine zu verflüssigen, die Milch zur Gerinnung zu bringen, hatten beide gemeinsam. Alle Eigenschaften sind bei den verschiedenen Stämmen der einen oder der anderen Bakterienart sehr verschieden stark ausgebildet, ferner variieren sie innerhalb der einzelnen Rassen. Es gelang nun Ruczicka, unter Benutzung dieser an und für sich nicht ganz konstanten Verhältnisse aus einem aus dem Wasser stammenden Fluorescenzstamm eine Rasse zu erhalten, welche üppiger bei 37° wuchs und einen blauen Farbenschimmer hatte und umgekehrt aus einem Bacillus pyocyaneus einen bei Zimmertemperatur üppiger vegetierenden, fast ohne blauen Farbenton wachsenden Stamm zu erhalten. Angaben über das Lösungsvermögen der Farben dieser Stämme in Chloroform und anderen Mitteln fehlen.

Luckard([8]) berichtet über einen Bac. prodigiosus der, nachdem er einige Zeit weifs gewachsen war, plötzlich wieder rot wuchs. Der Grund dazu sollen molekulare innere Umwälzungen sein.

Gegen alle diese Untersuchungen läfst sich aufser Zweifeln an der Reinheit, welche, wie ich schon betonte, immer vorhanden sein müssen, wo nicht stete Kontrolle herrscht, noch anderes vorbringen. Dieser Farbstoffbildung fehlt an und für sich schon das Konstante, wo aber nichts Konstantes vorhanden ist, kann keine neue Varietät angenommen werden, wenn auch eine der normalerweise schon vorhandenen, und mit anderen abwechselnden Formen einige Zeit konstant bleibt, um dann plötzlich bei irgendeiner Gelegenheit zur alten Form wieder zurückzuspringen. Unsere Kenntnisse über die Bedingung der Farbstoffbildung sind noch so gering, dafs uns diese von Zufälligkeiten in der Herstellung der Nährböden abhängig erscheint, die wir noch nicht genügend beherrschen.

Noefske[12]) und Kuntze[7]) haben gezeigt, dafs zur Farbstoffproduktion des Bacillus pyocyaneus und des Bacillus prodigiosus die Anwesenheit von Magnesium-Schwefelverbindungen nötig ist, dafs aber von diesen Stoffen schon 0,001 % genügen, um die Farbe zu erhalten. Wenn daher z. B. ein orangefarbener Mikroorganismus einige Zeit in einigen Partien der Kultur rosa wächst und einige Zeit hindurch in dieser Farbe gehalten werden kann, um dann plötzlich wieder eine Tendenz zu einem orangefarbenen Wachstum zu erlangen, wer beweist uns, dafs das nicht von Veränderungen im Nährboden, wenn diese auch nicht kontrollierbar sind, abhängen können? Wenn aber ein orangefarbener Mikroorganismus rosa wächst, wenn er auf einen neuen anders zusammengesetzten Nähragar gebracht wird, kann das nicht als echte Variation angesehen werden.

Dann ist bei dieser Art der Züchtung auf schrägem Agar oder durch Gelatine- oder Agarstich eine richtige, systematische Selektion unmöglich. Auch wenn in unserem Beispiel von einem etwas röterem Teil einer orangefarbenen Strichkultur abgeimpft wird, um durch Selektion einen ganz roten Stamm zu erhalten, so züchtet man immer Kulturen, welche von Millionen von

Bakterien ausgehen, unter welchen wohl die gewünschten aber auch viele nicht gewünschte Bakterien sich befinden, deren Kolonien wieder zu einer gleichmäfsigen Kultur sich vermischen. Ganz anders sind die Bedingungen bei einer Aussaat; hier entstehen die Kolonien aus einzelnen Bakterien, man erhält viel einheitlicheres Material und sieht bei einer neuen Aussaat von einer Kolonie, ob sich die Tochterkolonien untereinander gleich verhalten oder nicht; man kann im letzteren Falle diejenigen Kolonien, welche durch Besonderheiten auffallen, einzeln weiter verimpfen, ohne sich die neue Kultur durch Mitverimpfung nichtgewünschter Kolonien zu verderben.

Auch dagegen mufs Front gemacht werden, dafs die Identität zweier Bakterienarten, einer künstlich gezüchteten und einer in der Natur vorkommenden, erklärt wird auf Grund von sehr inkonstanten oder degenerativen Eigenschaften. Besonders bei Vergleichung verschiedener Kokken mufs davor gewarnt werden, zu früh zu identifizieren, bevor nicht alle Mittel, auch hämolytisches Vermögen, Tierpathogenität und Agglutination, letztere allerdings mit Vorsicht, herangezogen wurden. Ein Micrococcus pyocyaneus aureus, der weifs wächst und etwas weniger Alkali bildet, kann ein degenerierter aureus sein und braucht daher noch lange nicht mit einem Micrococcus albus identisch zu sein, der im Vollbesitze aller seiner Eigenschaften ist.

Zum Schlusse möchte ich noch etwas anfügen, was vielleicht ebenfalls beitragen kann, die Entstehung verschiedenfarbiger Rassen zu erklären, ohne Varietätenbildung annehmen zu müssen.

Channot und Thiry[3]) extrahierten einen Farbstoff aus einer Kultur des Bacillus polychromogenes und stellten Versuche über dessen Farbe bei verschiedenen Säure- und Alkalitätsgraden an. Es zeigte sich, dafs Säure in Spuren violett färbte, ein Überschufs derselben purpurrot bis rot, Ammoniak liefs eine rote Farbe entstehen, Kalihydrat, Natriumhydrat und Barythydrat machten den Farbstoff violett, im Überschusse grün. Sehen wir so, dafs dieselbe Säure oder Base, je nachdem sie in Spuren oder in stärkeren Konzentrationen angewandt wird, die Farbe des gleichen Farbextraktes ändern kann, so läfst sich denken,

wie ein Bakterienstamm eventuell eine andere Färbung zeigen kann, wenn ihm durch Schädigung die Fähigkeit genommen wird, stärkere Säuren oder Alkalien zu bilden. In einem solchen Falle hätte dann die Bildung einer anderen Farbe eine andere Bedeutung; man könnte weniger von Varietät als von einer Degeneration des Stammes sprechen.

Ganz in degenerativer Richtung liegen die Versuche von Schierbeck[16]). Er züchtete Milchsäurebakterien in karbolhaltiger Milch. Nach einigen Züchungen auf diesem Boden fiel das Säuerungsvermögen, um aber auf normalem Boden bald wieder zur früheren Höhe anzuwachsen. Wurde aber die Züchtung in Karbolmilch 45 Generationen hindurch weitergetrieben, so erhielt Schierbeck einen Stamm, der auch in gewöhnlicher Milch die Fähigkeit der Säuerung in definitiv geringerm Grade hatte als der Stamm, von dem er abgezweigt worden war.

Zu der gleichen Gruppe gehören alle Virulenzverluste der Bakterien, von welchen wohl jeder Bakteriologe Beispiele genug kennt.

Interessant sind die Beobachtungen Beyerincks[2]) über verschiedene Arten von Variationen, da hier nicht die Veränderungen an Agarstrichkulturen, sondern an Aussaaten festgestellt wurden. Genauere Angaben liegen vor über die Variation einer Hefeart, beim Bacillus prodigiosus und einem Wasserbakterium (Photobacter indicum). Uns interessieren hier die beiden letzten Variationen. Beyerinck hatte 3 Prodigiosusstämme gezüchtet, davon verflüssigte einer Gelatine nicht, wohl aber die beiden anderen, welch letztere sich durch die Fähigkeit bzw. Unfähigkeit, gewisse Kohlehydrate zu vergären, voneinander unterschieden. Alle 3 Stämme bildeten rote Farbe. Von allen 3 Stämmen erhielt Beyerinck farblose Varianten, welche farblos blieben, sich im übrigen aber so verhielten wie ihre Mutterkulturen. Subvarianten, d. h. Rosa-Kolonien, waren viel seltener, sie waren ebenfalls konstant, aber es trat leichter Atavismus auf als bei den Varianten. Auch aus den Subvarianten entstand die weifse Variation. Auf eine sehr lange Beobachtungszeit von 13 Jahren stützen sich Beyerincks Versuche über das Photo-

bacter indicum. Er erhielt, besonders bei Verimpfung älterer Kulturen, neben den normalen beweglichen leuchtenden Formen eine solche, welche nicht leuchtete (Phot. ind. obscurum) und eine sehr langsam wachsende, schwach bewegliche Form (Phot. ind. parvum). Auch hier treten Zwischenstufen, Subvarianten, seltener auf als die Varianten und sind weniger konstant als diese. Im Meerwasser fand Beyerinck diese Variationen nicht, wohl aber 2 andere Varianten oder sehr nahe verwandte Arten des Phot. ind.

Conn(4) berichtet, wie es ihm durch Selektion einzelner Kolonien aus Platten gelang, verschiedene in der Milch natürlich vorkommende Bakterienarten zu züchten.

Einige kurze Angaben über Varietäten lasse ich hier unberücksichtigt, da sie entweder erst nach ihrer Entstehung beobachtet wurden — uns interessiert aber hauptsächlich der Modus der Entstehung —, oder da die Angaben zu lückenhaft und unsicher sind, um verwertet zu werden.

Die angeführte Literatur zeigt, dafs der Begriff Variabilität sehr verschieden weit gefafst wird. Es erscheint daher angebracht, über den Begriff der Variabilität, wie er bis jetzt in der Bakteriologie gehandhabt wurde, einiges zu berichten. Es existieren zweierlei Systeme, in welchen die verschiedenen Arten von Variabilität eingereiht werden können. Dasjenige von Rodet(14) umfafst alle Arten von bei gleichen Bakterienstämmen beobachteten verschiedenen Zuständen mit Ausnahme der aufeinanderfolgenden Entwicklungsphasen eines Individiums. Beyerinck(1) zieht seine Grenzen enger, einige von Rodet noch als Varietäten bezeichnete Veränderungen zählt Beyerinck nicht mehr dazu.

Rodet unterscheidet 3 Arten von Variabilität:

1. Poly- oder Pleomorphismus. Ein Bakterium zeigt auf verschiedenem Nährboden verschiedene Gestalt. Für jeden Nährboden ist die Form typisch, sie wird so lange beibehalten, als das Bakterium auf diesem Nährboden wächst.
2. Pluriformität. Betrachtet man die Kolonien einer Aussaat aufmerksam, so sieht man, wie nie alle Kolo-

nien ganz gleich aussehen, sondern wie immer einige etwas andere Form haben. Wird von einer dieser Kolonien wieder eine Aussaat gemacht, so tritt nicht der Typ, welchem die verimpfte Kolonie angehört hat, etwa allein auf, sondern immer wieder die auf der ersten Platte vorhandenen Typen (z. B. Diphtherie.)

3. Variabilität im engeren Sinne. Die Bakterien einer Kultur erhalten unter bestimmten Voraussetzungen von den bis dahin vorhandenen abweichende Eigenschaften und behalten diese in der Folge bei, auch wenn sie wieder unter die alten Bedingungen gestellt werden. Rodet bemerkt dazu, dafs diese neueren Arten meist degenerative Charaktere tragen.

Beyerinck teilt die Variationsbildungen bei Bakterien folgendermafsen ein:

1. Degeneration. Frisch gezüchtete Kulturen verlieren allmählich gleich nach der Züchtung noch vorhandene Eigenschaften. Die Degeneration endigt mit der Unmöglichkeit, die Kultur weiter zu züchten. Sie betrifft alle Individuen gleichzeitig. Eine Selektion einzelner ist daher nicht möglich.
2. Transformation. Alle Bakterien einer Kultur verlieren eine Eigenschaft oder erhalten eine neue, oder verlieren eine solche und erhalten gleichzeitig eine andere. Sie ist selten. Die neu entstandenen Formen sind konstant.
3. Variation im engeren Sinne. Sie ist die häufigste Form. Einzelne Individuen eines Stammes erhalten eine neue Eigenschaft und vererben diese sogleich konstant weiter an ihren Nachkommen; Atavismus kommt zwar vor, ist aber selten. Als Grund gibt Beyerinck ungenügende Ernährung, Anhäufung eigener Sekretionsprodukte in alten Kulturen an.

Nicht alle dieser hier aufgezählten Gruppen von Variabilität haben gleiches Interesse. Weniger interessant sind in degenerativem Sinne tendierende Veränderungen, weil dadurch nur Arten verschwinden, nie aber neue entstehen können. Wichtig sind

dagegen diejenigen Variationen, welche bis dahin noch nicht vorhandene Eigenschaften zeigen. Mufs doch in phylogenetischem Sinne eine Variabilität vorhanden gewesen sein, da wir annehmen können, dafs unsere jetzt vorhandenen Bakterienarten nicht immer so bestanden haben wie jetzt, sondern dafs auch bei den Bakterien weniger differenzierte Formen vorhanden waren, aus welchen die jetzigen Arten entstanden. Mufs nun auch eine solche Variabilität vorhanden gewesen sein, so ist doch die Frage, ob sich eine solche in der kurzen Spanne Zeit eines Experimentalversuches nachweisen läfst. Wenn damit auch kaum ein auf phylogenetischen Tatsachen aufgebautes System erhalten werden kann, wie es z. B. in der Zoologie besteht, so geben uns derartige Beobachtungen doch den Beweis, dafs Variationen überhaupt vorkommen können, und zeigen uns auch, wie diese vor sich gehen. Nebenbei erhalten wir auch richtige Anhaltspunkte für die Wertung von Eigenschaften der Bakterien, je nachdem sie sich bei diesen Versuchen konstant oder weniger konstant erweisen. Es beansprucht daher jeder Fall von wirklich beobachteter Variabilität ein Interesse, gerade bei der Spärlichkeit von sicheren Beobachtungen aus diesem Gebiete.

Dabei darf es sich nicht nur um Veränderungen handeln, welche vorwiegend den Charakter der Degeneration und des Verlustes von Eigenschaften oder die Merkmale einer allgemein herabgestimmten Lebensenergie haben, sondern unser Interesse wird hauptsächlich dann erweckt, wenn es sich um neu auftretende Eigenschaften handelt, ohne nachweisbare degenerative Symptome.[1]) Hierbei wird es weiter von grofser bio-

---

1) Als ich nach Abschlufs dieser Arbeit, und als Herr Massini bereits wieder in Basel Assistent war, auf der 1. Mikrobiologischen Vereinigung in Berlin über diese Arbeit referierte (s. Zentralbl. f. Bakt. 1906), wurde von Herrn Hofrat Gruber in der Diskussion eine unter seiner Leitung entstandene Arbeit von Firtsch erwähnt, die uns entgangen war, und die einen ähnlichen Fall behandelt. Firtsch beschreibt (Archiv f. Hyg., VIII, S. 369) verschiedene Kolonieformen des Vibrio Finkler-Prior, die man erhält, wenn man von alten Gelatinestichkulturen diese Mikrobengelatineplatten giefst. Trotz erwiesener Reinheit des Ausgangsmaterials erhält man so neben den typischen Kolonien andere Kolonienformen, die auch bei Weiterzüchtung

logischer Wichtigkeit sein, ob die Variation eine allmählich entstehende Umwandlung oder eine sprungweise Variation im Sinne der de Vriesschen Mutation ist.

Voraussetzung für alle in dieser Richtung liegenden Versuche ist die dauernde Reinheit und Einheitlichkeit der Kultur.

Ich glaube, dafs der im folgenden zitierte Fall diesen Anforderungen gerecht wird und deshalb ein biologisches Interesse beanspruchen darf.

A. Die Knötchen.

Die Beobachtungen, über welche ich im folgenden berichten werde, wurden auf Veranlassung und unter der Leitung von Prof. Max Neisser an einem Bakterium der Typhus-Koli-Gruppe angestellt.

Das Bakterium wurde aus dem Stuhle eines an kurzer fieberloser Gastro-Enteritis leidenden 18jährigen Arbeiters gezüchtet.

Auf Endonährböden, auf welchem er isoliert wurde, wächst unser Bakterium ähnlich wie der Typhusbazillus farblos, nur saftiger und nicht so durchscheinend wie dieser. Nach einigen Tagen wird die Farbe der Kolonie etwas röter, erhält aber nie den metallischgrünen Fuchsinglanz, wie ihn die Kolonien des gewöhnlichen Bacterium coli commune auf Endoagar zeigen. Ich möchte hierzu bemerken, dafs der Endonährboden, wie be-

---

ihre abweichenden Eigenschaften bewahren. Und den atypischen Kolonieformen entsprechen auch atypische mikroskopische Formen und atypisches Aussehen im Stich. Wenn ich trotzdem diesen gewifs interessanten Fall nicht auf dieselbe Stufe stelle wie den Massinischen, so geschieht es, weil Firtsch selbst sagt: »So bedeutend die Unterschiede im Aussehen der Kolonien auf Nährgelatine sind, so lassen sie sich doch mit grofser Wahrscheinlichkeit auf verschiedene Grade von Abschwächung der Wachstumsenergie überhaupt, der Fähigkeit, die Gelatine zu verflüssigen und der Eigenbewegung zurückführen; Abschwächungsvorgänge, die gewifs nicht bedeutsamer sind als der Verlust der Fähigkeit, Sporen zu bilden, der Gärtätigkeit, der Virulenz«. Die Erscheinungen am Vibrio Finkler sind also egenerativer Natur, unser Kolistamm zeigt das plötzliche Auftreten einer neuen Eigenschaft, die plötzliche Produktion der Laktase. Gerade in der Neuerwerbung einer Eigenschaft sehe ich aber das biologisch nteressante unseres Falles.

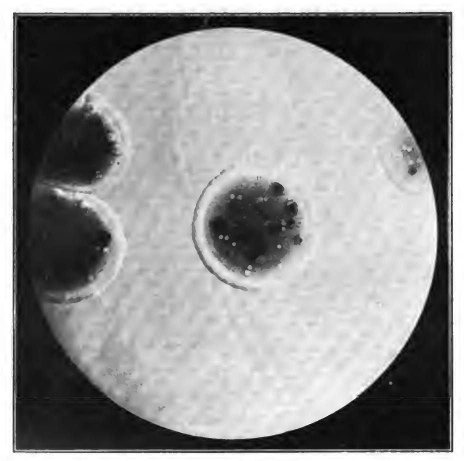
M. Neifser.

kannt, an sich nicht ganz farblos bleibt, wenn er, besonders bei Anwesenheit von Kondenswasser, aber auch ohne solches im Brutschrank bei 37° steht, sondern dafs er einen Rosa-Farbenton annimmt. Die Kolonie behält diesen Farbenton bis zu ihrem Absterben bei. Um einige besonders grofse und alte Kolonien habe ich oft einen hellen Hof bis zu 1 cm Breite bemerkt, indem dort die normale Rosafärbung des Endoagars durch eine von der Kolonie ausgeschiedene diffundierende Substanz verhindert wird.

Die Form der Kolonien zeigt nun an den zwei ersten Tagen keinerlei Besonderheit, vom 3. Tage an aber entstehen in den noch weiter wachsenden Kolonien kleine, aber mit dem blofsen Auge leicht sichtbare Knötchen von der Gröfse einer Stecknadelspitze, welche, wenn sie älter werden, die Gröfse eines Stecknadelkopfes erreichen. Diese Knötchen besitzen in der Regel, wenn sie noch jung sind, eine gelblichweifse, durchscheinende Farbe und werden mit dem Alter dunkelrot. Der Umschlag der weifsen Farbe in die rote tritt verschieden schnell auf, bei einigen Knötchen in kürzerer Zeit als einem Tage, bei anderen dauert es länger. Seltener entstehen sie gleich als rote Knötchen. Die Zeit, welche vergeht, bis die Kolonie die Knötchen bildet, ist in der weitaus gröfseren Zahl der Fälle 2 Tage, seltener entstehen sie erst nach dem dritten Tage. Nur ganz extrem selten habe ich sie schon nach 24 Stunden beobachtet. Es war dies unter 112 untersuchten Plattensätzen nur auf 2 Platten der Fall. Die Zahl der Knötchen ist am Tage ihres Auftretens nur gering, 1—4, läfst man aber die Kolonie weiter wachsen, so entstehen täglich neue Knötchen, so dafs in sehr grofsen Kolonien über 200 gezählt werden können (siehe die 2. Photographie). Die ersten Knötchen zeigen sich in dem mittleren Teil der Kolonie, die später hinzukommenden lagern sich um die vorhandenen herum, aber immer so, dafs der wachsende Rand der Kolonie freibleibt.

Stehen die Kolonien auf einer Platte sehr dicht, so dafs sie sich gegenseitig am weiteren Wachstum behindern, so entstehen keine Knötchen. Man erhält daher häufig Platten, auf denen die mehr vereinzelt liegenden gröfseren Kolonien an der Peri-

pherie der Platte Knötchen zeigen, die zentral liegenden kleineren Kolonien aber nicht. Auf der ersten Platte der Endoagaraussaaten, auf welchen die einzelnen Kolonien überhaupt nicht isoliert zu sehen sind, sondern so früh ineinander wachsen, dafs ein Rasen entsteht, sieht man in der Anzahl von 5—20 auf der ganzen

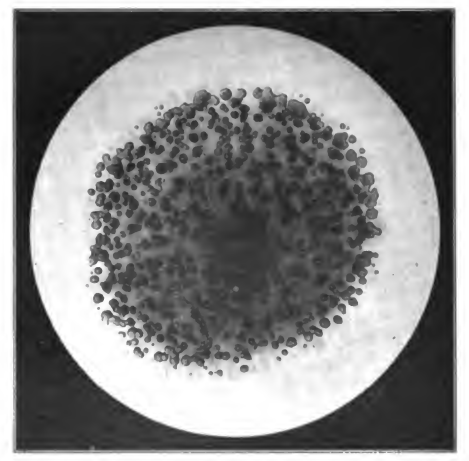


Phot. I.

Platte Gebilde auftreten, welche durch ihre dunklere Färbung und durch Hervorragen aus dem übrigen Rasen auffallen. Sie können als den Knötchen der Kolonien entsprechend angesehen werden, da sie zu gleicher Zeit wie diese entstehen.

Die drei Photographien zeigen 2 Kolonien mit Knötchen, das eine (Phot. I) ist eine sechstägige Kolonie bei ca. sechsfacher Vergröfserung. Man sieht darin deutlich weifse und rote Knötchen. Der Rand der Kolonie tritt sehr stark wallartig hervor, viel stärker als es der Wirklichkeit entspricht. Es ist das wohl die Folge der etwas röteren Färbung des mittleren Teiles der Kolonie,

welcher für die photographische Platte weniger wirksame Strahlen abgibt als die weifsere Randpartie. Die 2. Kolonie (Phot. II u. III) ist 9 Tage alt, sie zeigt, wie grofs alleinstehende Kolonien werden, und wie dicht sie mit Knötchen übersät sein können. Die Photographie gibt die Kolonie in dreifacher Vergröfserung wieder. Auch



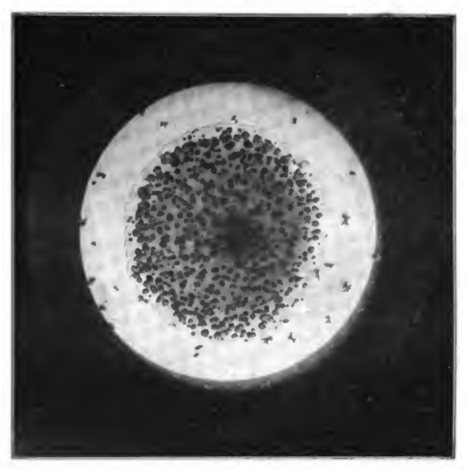
Phot. II.

hier sieht man deutlich den Unterschied zwischen weifsen und roten Knötchen. Einige der Knötchen sind zu kleinen Plaques zusammengeflossen. Photographie III stellt die gleiche Kolonie dar wie Photographie II in etwas kleinerer Vergröfserung. Der Rand der Kolonie ist etwas deutlicher sichtbar geworden. Die Sternchen auf dieser Platte entstanden durch Austrocknen des Agars und haben mit der Kolonie nichts zu tun.

Alle drei Photographien sind nicht retouchiert worden.

Aus was bestehen nun diese Knötchen? — Man mufste zunächst an Gasblasen denken. Dafs es solche nicht waren, stellte

sich bald heraus, denn erstens waren sie durch Evakuieren nicht zum Platzen zu bringen, und dann zeigten Serienschnitte durch Kolonien, dafs die Knötchen solide waren und keinen Hohlraum besafsen. Diese Schnitte genügten auch, um nähere Details über die Knötchen zu geben. Sie wurden erhalten, indem mittelgrofse



Phot. III.

Kolonien in Alkohol fixiert und gehärtet und in Paraffin eingebettet wurden. Es liefsen sich auf diese Weise 6—8 μ dicke Schnitte herstellen. Gefärbt wurden diese zum Teil mit Karbolthionin, zum Teil mit einem Gemisch von Löfflers Methylenblau mit zehnfach verdünntem Karbolfuchsin im Verhältnis 10 : 1. Es zeigen sich die Kolonien (siehe Fig. 1) bei schwacher Vergröfserung aus einzelnen Schichten zusammengesetzt. Diese Schichtung findet sich an allen untersuchten Präparaten verschiedener Kolonien als abwechselnd hellere und dunklere Streifen, welche sich durch die ganze Kolonie hindurchziehen. Bei den mit dem

Methylenblaufuchsingemisch gefärbten Schnitten sind einige Schichten auch mehr rötlich, andere entschiedener blau gefärbt. Diese Schichtung mufs als morphologische Eigenschaft angesehen werden, wie an anderen Kolonien eine radiäre oder konzentrische Streifung. Sie entspricht wahrscheinlich Generationsschüben. Man sieht nun, wie die Knötchen in der Tiefe der Kolonie an der Oberfläche des Agars entstehen und in die Kolonie ein-

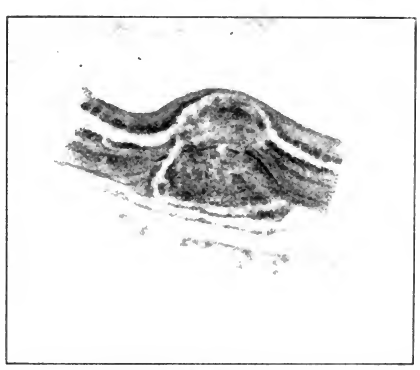


Fig. 1.

wachsen. Wie ein maligner Tumor durchbrechen sie die einzelnen Schichten oder drängen sie auch aus ihrer Lage. Einzelne Schichten scheinen dem Wachstum der Knötchen einen stärkeren Widerstand entgegenzusetzen als andere, man sieht dann, wie das Knötchen verengt wird und sich dann in der nächsten Schicht wieder ausdehnt. Oft sieht man auch eine Andeutung einer besonders resistenten Schicht das Knötchen durchsetzen. Letzteres kann so lange wachsen, bis es die oberste Schicht durchbrochen hat; Knötchen in den Knötchen wurden nie beobachtet.

Es traten natürlich sofort und immer wieder Zweifel auf an der Reinheit derselben. Man mufste an eine Symbiose zweier Bakterien in 1 Kolonie denken, wie sie z. B. von M. Neifser(11)

für Xerosekolonien, in denen Influenzabazillenkolonien auftraten, beschrieben worden ist. Diese Vermutung bestätigte sich nicht. Vielmehr müssen wir die Knötchen als eine Eigentümlichkeit der Kolonien unseres Koli ansehen und die Kultur als absolute Reinkultur.

Um sicher eine Reinkultur zu erhalten, verfertigte ich mit aller Sorgfalt Plattenausstriche. Es wurden von einer Endoagarplatte, auf welcher die einzelnen Kolonien gut isoliert liegen, von einer solchen mit der Nadel in Bouillon abgeimpft, die Bouillon wurde kräftig geschüttelt, um die Bakterien gut zu verteilen, dann wurden aus der Bouillon 3 kleine Ösen auf Endoagar übertragen und mit dem von Conradi und Drigalsky zur Untersuchung des Stuhles auf Typhusbazillen empfohlenen Glasspatel auf 3 Endoagarplatten (Dm. 100 mm) zur Verteilung gebracht. Es gelingt auf diese Weise immer, in der 2. oder 3. Platte eine Aussaat zu erhalten, in welcher die Kolonien weit voneinander entfernt liegen. Um auch die Anhänger des Gelatinegufsverfahrens zu befriedigen, gofs ich auch Gelatinesätze, nachdem ich die abgeimpfte Kolonie ebenfalls zuerst in Bouillon durch Schütteln zur Verteilung gebracht hatte. Es gelang mir aber nicht, die Knötchen aus den Kolonien zu entfernen, trotzdem ich, bevor ich zur experimentellen Untersuchung des Bakteriums schritt, nach einigen Vorversuchen eine ununterbrochene Reihe von 8 Endoplattensätzen mit 3 dazwischen eingelegten gegossenen Gelatinesätzen, dabei immer von einzelnen Kolonien ausgehend, verfertigt hatte. Auch fernerhin wurde der Stamm immer durch Plattenverfahren nach Abimpfen von einer Kolonie weiter gezüchtet. Eine ununterbrochene Reihe von 51 Züchtungen, darunter 4 Gelatinesätze, bestätigten zuletzt die schon früher erhaltenen Resultate. Will man also den Glauben an unsere Methode zur Isolierung von Bakterien nicht verlieren, mufs die Kultur als sichere Reinkultur angesehen werden.

Ich bemerke hier ausdrücklich, dafs ausschliefslich dieses Plattenverfahren mit Abimpfung von einer Kolonie verwendet wurde, auch in Nebenversuchen.

Als Tatsachen, welche für die Reinheit der Kultur sprechen, habe ich aber auch noch anderes anzuführen. Ich stellte folgenden Versuch an: Ich impfte einerseits von einer Kolonie, welche ja nach 24 Stunden noch keine Knötchen hat, am ersten Tage ab und strich einen neuen Plattensatz aus; anderseits entnahm ich Material aus der Mitte einer alten, also knötchenhaltigen Kolonie. Das Resultat dieses Versuches war folgendes: Die Zahl der auftretenden Knötchen im neuausgesäten Satze war nur abhängig von der Gröfse der entstehenden Kolonie, dagegen war es ganz gleichgültig, ob in dem verimpften Materiale Knötchen gewesen sind oder nicht. Statt eine ganz junge Kolonie weiter zu impfen, um Material ohne Knötchen zu erhalten, konnte ich auch vom Rande einer alten Kolonie abimpfen, welcher ja auch keine Knötchen besitzt. Der Versuch ergab das gleiche Resultat wie der vorige: Abhängigkeit der Knötchenanzahl in einer Kolonie nur von der Gröfse derselben, nicht aber von dem zur Verimpfung benutzten Material (Rand oder Mitte der Kolonie). Beide Versuchsarten wurden mehrere Male mit dem gleichen Resultat wiederholt. Würde man eine Mischkultur zweier von einander verschiedener Bakterien annehmen, so müfste das Verhältnis zwischen den Kolonien der beiden Bakterien ein anderes sein, wenn einmal nur die eine Art, Abimpfung von einer jungen Kolonie oder vom Rande einer alten, das andere Mal beide Arten, Verimpfung einer alten, ganzen Kolonie, verimpft würden. Entsprechend den vorigen Versuchen, sieht man auch auf der gleichen Platte, auf der ja die beiden Sorten gleichmäfsig verteilt sein müfsten, ein verschiedenes Verhältnis der Menge der Knötchen zu der Menge der als »Amme« dienenden Kolonien. Am Rande der Platte sind wenige grofse Kolonien mit vielen Knötchen, in der Mitte sind viele kleine Kolonien mit wenig oder keinen Knötchen. Auch folgende Tatsache läfst sich noch schwer mit der Annahme zweier symbiotisch miteinander lebenden Bakterien vereinigen. In der Kolonie entstehen, solange sie wächst, neue Knötchen, eines vom anderen getrennt, so dafs z. B. die am 7. Tag entstehenden Knötchen auch bei mikroskopischer Untersuchung keinen Zusammenhang mit den am 3. Tage ent-

standenen haben. Man müfste also für die Knötchenbakterien eine Wanderung innerhalb der Kolonie annehmen, was bei der fehlenden Beweglichkeit der Bakterien nicht sehr wahrscheinlich ist. Morphologische oder färberische Unterschiede zwischen den Bakterien in den Knötchen und denen der übrigen Kolonie habe ich nicht gefunden. Weitere Tatsachen, welche beweisen, dafs wir es mit einer sicheren Reinkultur zu tun haben, ergeben sich im ferneren Verlauf der Arbeit.

Nach dem Gesagten müssen wir es als unbedingt feststehend annehmen, dafs die Kultur eine sichere Reinkultur ist, und daran festhalten, dafs das Interesse der nachfolgenden Beschreibung wesentlich von der Annahme einer Reinkultur abhängt. Untersuchen wir nun die Bedingungen näher, unter denen die Knötchen entstehen. Eine solche habe ich schon erwähnt, die Kolonie mufs ein gewisses Alter haben, sie mufs zum mindesten 2 Tage alt sein, wenn in ihr Knötchen entstehen sollen. Auch dann treten sie in den ältesten Teilen der Kolonie auf, nämlich in der Mitte und am Grunde derselben an der Agaroberfläche. Eine weitere Bedingung ist der Zusatz von Milchzucker zum Nährboden. Die meisten Untersuchungen wurden auf Endoagarplatten gemacht, es genügte aber der Milchzucker allein schon, um Knötchen hervorzurufen, wie zahlreiche Kontrollversuche mit unserem gewöhnlichen 2 proz. Fleischwasseragar bei Zusatz von 1 % Milchzucker beweisen. Endoplatten wurden nur darum vorwiegend zur Untersuchung benutzt, weil sich darauf zu gleicher Zeit die später zu behandelnde Variation bequem untersuchen liefs. Der Prozentgehalt des Milchzuckers konnte bis 0,1 % heruntergesetzt werden, ohne dafs die Knötchenbildnng unterblieben wäre. Allerdings treten die Knötchen bei diesem niederen Prozentgehalt nur in gröfseren Kolonien auf, als bei einem höheren und dann auch spärlicher in der einzelnen Kolonie.

Bei einem Milchzuckergehalt aber von 1 % treten sie in jeder gröfseren Kolonie mit einer solchen Regelmäfsigkeit auf, dafs diese Knötchen als sicheres diagnostisches Zeichen für dieses Bakterium angesehen werden können. Auf anderen als auf

milchzuckerhaltigen Nährböden konnten keine Knötchen erhalten werden. Es wurde untersucht: das Wachstum auf gewöhnlichem neutralen Agar, 0,2%, 0,5%, 1%, 2% Traubenzuckeragar, 1% Mannit- und Dextrinagar, Agar mit verschiedenem Karbolsäurezusatz und verschiedener Alkalität, nirgends war auch nur eine Andeutung von Knötchen zu sehen, auch bei viele Tage alten Kolonien. Hierzu ist zu bemerken, dafs bei Mannit- und Traubenzuckerzusatz die Kolonien nur klein bleiben. Man könnte daher annehmen, dafs die Kolonien nicht grofs genug wachsen, um Knötchen zu erhalten; immerhin sind die gröfsten Kolonien auf Traubenzucker- und Mannitagar, welche keine Knötchen zeigen, gröfser als die kleinsten Kolonien auf Milchzuckeragar, welche noch Knötchen besitzen. Das Gleiche gilt für die Kulturen auf karbolhaltigen Nährböden. Bei Agar ohne Zusatz von Zucker und Dextrinagar kann dieser Einwand nicht geltend gemacht werden, da hier, besonders auf Dextrinagar, die einzelnen Kolonien sehr grofs werden. Trotzdem traten nie Knötchen auf.

Ein einziges Mal sah ich auf gewöhnlichem Agar etwas, was bei ganz oberflächlicher Beobachtung für Knötchen hätte gehalten werden können, die genauere Betrachtung zeigte aber die völlige Verschiedenheit von diesen. Es handelte sich damals um eine gewöhnliche Agarplatte, welche mit diesem Koli geimpft und bei einer Temperatur von 42° gehalten wurde. Nach 10 Tagen ging eine vorgenommene Abimpfung von einzelnen Kolonien nicht mehr an. Die Platte blieb darauf 2 Tage auf dem Arbeitsplatze liegen, am 3. Tage bemerkte ich bei ganz wenigen Kolonien auf einer Seite der Platte Auswüchse, welche zu Beginn als Knötchen imponierten, die sich aber später als nichts anderes als wieder zu Kolonien auswachsende Bakterien bei Abgestorbensein der übrigen Kolonie erwiesen. Die entstehenden Gebilde waren auch nicht kugelig wie die Knötchen, sondern flach, sie entstanden nicht in der Mitte der Kolonie sondern am Rande derselben. Ich hatte diese Platte eben gerade zu der Zeit aus dem Brutschranke genommen, da die Mehrzahl der Bakterien abgestorben war, und nur eine ganz geringe Zahl von Bakterien am Leben waren. Die ersten Kontrollimpfungen hatten zufällig nur tote Kolonien getroffen. Später vorgenommene Kontrollen zeigten, dafs zwar die Abimpfung von der Kolonie keinen Erfolg hatte, dafs aber eine solche von den Auswüchsen auf Endoagar typische Kolonien entstehen liefs. Dem nächsten Abschnitt vorgreifend, will ich hier schon erwähnen, dafs aus den Auswüchsen dieser Agarplatte keine rotweifsen Sätze entstanden, trotzdem am 3. und 8. Tage, nachdem sie bemerkt wurden (die Kolonie war schon 13 resp. 18 Tage alt), abgeimpft wurde, zu einer Zeit, wo bei echten Knötchen auf Milchzucker schon längst rotweifse Platten entstanden wären.

Diese Auswüchse sind also nicht mit den Knötchen zu identifizieren, sondern als Wiederaufleben einiger Bakterien in einer sonst toten Kolonie anzusehen.

Die Knötchen entstehen also nur bei Zusatz von Milchzucker zu dem Nährsubstrat.

Bei anderen Bakterien als bei unserem Bacterium coli habe ich Ähnliches nicht bemerken können. Eine grofse Zahl der daraufhin untersuchten Bakterien, besonders aus der Typhus-Koli-Gruppe, konnte lange (bis 14 Tage) beobachtet werden, es entstanden nie solche Gebilde wie die Knötchen. Meine Untersuchungen erstreckten sich auf 9 den Milchzucker nicht vergärende, zur Koligruppe gehörende Arten, auf eine grofse Anzahl typischer Koli, auf fünf Typhusstämme, 4 Paratyphusstämme, 3 Dysenterien vom Typus Flexner, 1 Dysenterie vom Typus Shiga, 2 Proteusarten, 1 Alkaligenesstamm, einige Staphylokokken und Streptokokkenstämme und auf Milzbrand. Man findet zwar in sehr alten, fast vertrockneten Kolonien zuweilen ganz kleine Erhabenheiten, welche entfernt an Knötchen erinnern. Diese treten aber stets sehr spät und unregelmäfsig auf, sie sind zudem kleiner und haben Übergänge zu den unbedeutendsten Unebenheiten in der Kolonie, mit den Knötchen können sie nicht verwechselt werden.

Auch die neulich von Eisenberg[5]) beschriebenen sekundären Tiefenkolonien haben mit den Knötchen unseres Koli gar nichts gemein. Jene wachsen im Agar, bleiben also beim Entfernen der Kolonie mit dem Spatel bestehen, diese wachsen in der Kolonie selbst, und werden beim Versuch, die Kolonie von der Agarfläche abzuschaben, mitgenommen. Jene treten besonders schön bei Serumzusatz, nicht aber bei Zusatz von Milchzucker, diese nur bei Zusatz von Milchzucker auf und fehlen vollständig bei Zusatz von Kaninchenserum in verschiedener Konzentration (1%, 2,5%, 5%) vollständig. Eisenbergs Granulationen sind klein, mit blofsem Auge kaum sichtbar, die Knötchen aber sind ohne Mühe mit blofsem Auge schon aus einer gröfseren Entfernung zu sehen.

Etwas mehr äufserliche Ähnlichkeit haben die von Preisz[13]) beim Milzbrand beschriebenen »sekundären Kolonien«. Es sind dies durchscheinende Knötchen, welche nach Preisz aus resistenteren, teilweise auch anders geformten Bakterien und Sporenanhäufung bestehen. Diese Knötchen beim Milzbrand treten auch auf gewöhnlichem Agar auf. Eine Sporenbildung habe ich nun bei unserem Bacterium coli nie beobachtet. Dasselbe wird bei 80° prompt abgetötet. Um aber mögliche feinere Unterschiede in der Resistenz der Bazillen in den Knötchen und denen der Kolonien ohne Knötchen auszuschliefsen, machte ich folgenden Versuch. Es wurde einerseits eine knötchenhaltige, anderseits eine zweitägige knötchenfreie Kolonie in Bouillon aufgeschwemmt und dann in kleine Fläschchen verteilt. Diese wurden verkorkt, versiegelt, dann wurde von jeder Art je ein Fläschchen in Wasserbäder von 50°, 55°, 60°, 65° und 70° versenkt, so dafs sie ganz von dem warmen Wasser umgeben waren. Die Dauer der Erwärmung betrug ½ Stunde. Darauf wurde von den Fläschchen auf Endoagar abgeimpft und der Rest der Fläschchen in dem Brutschrank bei 37° bis zum anderen Tage aufgehoben. Die Prüfung ergab übereinstimmend auf dem Agar und in den Fläschchen, dafs eine Temperatur von 50° ½ Stunde von knötchenfreien und knötchenhaltigen Kolonien noch ertragen wurde, dafs aber 55° genügten, um die Bakterien in ½ Stunde abzutöten. Ein zweiter Versuch mit feineren Schlägen 50°, 53°, 56°, setzte die in ½ Stunde abtötende Temperatur für beide Arten der Kolonie auf 53° fest. Also auch die beim Milzbrand auftretenden Knötchen haben in ihrem Wesen nichts mit den im ersten Teil dieser Arbeit beschriebenen Knötchen zu tun.

Auch in der übrigen mir zugänglichen Literatur fand ich nirgends Angaben über ein ähnliches Verhalten einer Kolonie.

Eine Aufklärung über das Wesen dieser Knötchen werde ich später geben. Fassen wir einstweilen folgende Tatsachen zusammen:

1. Die weifsen Kolonien zeigen ausnahmslos, wofern sie am Rande der Platten liegen, oder sonst nicht zu zahlreich auf den Platten sind, vom 2. Tage an die Knötchenbildung.

II. Diese Knötchenbildung tritt ausschliefslich auf milchzuckerhaltigen Nährböden auf.

III. Ein Milchzuckergehalt von 0,1 % genügt, um die Knötchenbildung auftreten zu lassen.

IV. Die Farbe der Knötchen kann weifs oder rot sein. Im allgemeinen treten zuerst weifse Knötchen auf, welche allmählich rot werden.

V. Die Knötchenbildung beginnt frühestens am 2. Tage und nimmt mit dem Alter der Kolonie dauernd zu.

VI. Die Knötchenbildung konnte nur bei unserem Bacterium coli konstatiert werden. Sie fehlt bei anderen Bakterien der Koli-Typhus- und anderer Gruppen. Auch die von Eisenberg beschriebenen Granulationen und die von Preisz beim Milzbrand beschriebenen sekundären Kolonien haben nichts mit unserer Knötchenbildung zu tun.

Anschliefsend an das merkwürdige Wachstum des Koli auf Milchzuckernährböden, möchte ich hier die übrigen morphologischen und kulturellen Eigenschaften des Koli anführen.

Das Bakterium ist ein kurzes, ganz wie das typische Bacterium coli commune aussehendes Stäbchen mit etwas abgerundeten Ecken, nach Gram entfärbt es sich prompt. Beweglichkeit konnte nicht nachgewiesen werden. Polkörperchen und Sporen wurden nicht gebildet.

Auf Schrägagarröhrchen wächst es als üppige koliartige Kultur, schwach irisierend, mit leicht gelblichgrauem Farbenton. Die einzelnstehenden Kolonien sind rund, ohne besondere Zeichnung oder Körnelung.

Auf Traubenzucker und Mannitagar bleiben die Kolonien, wie schon gesagt, erheblich an Gröfse hinter denen auf anderen Nährböden zurück. Sie sterben da auch innerhalb 4—6 Tagen ab.

Auf Dextrinagar wächst das Bakterium leicht und bildet grofse, runde flache Kolonien.

Das Wachstum auf Conradi-Drigalsky-Agar entspricht dem auf dem Endoagar.

In Bouillon entsteht eine allgemeine Trübung, nach 2 Tagen beginnt ein Bodensatz zu entstehen, keine Kahmhaut.

Die Milch wird nach 8—15 Tagen zur Gerinnung gebracht.

Die Petruschkysche Lackmusmolke wird am 1. Tag schwach gerötet und eine Spur trüb. Am 2. Tage zeigt sie deutliche Rötung und Trübung. Dieses Aussehen bleibt bestehen, auch nach einem Monat tritt kein Farbenumschlag auf.

In »Traubenzucker hohe Schicht«[1]) verimpft, entsteht starke Gasentwicklung.

In »Milchzucker hohe Schicht« ist das Verhalten verschieden, je nachdem eine eintägige nicht knötchenhaltige Kolonie oder eine mehrtägige knötchenhaltige verimpft wird. Im ersten Falle

---

1) Um Bakterien auf ihr Vergärungsvermögen von Zuckerarten zu prüfen, werden dieselben in »hohe Schichten« von flüssig gemachten und auf 40° C abgekühlten Agar (1% Traubenzucker resp. Milchzucker) verimpft. Gründliches Umschütteln, Erstarrenlassen.

Wo es sich um schnelle Diagnose handelt, z. B. um Identifizierung von Typhusbazillen aus dem Stuhl, wird im Laboratorium von Prof. M. Meisser die mit einer typhusverdächtigen Kolonie geimpfte »Milchzucker-hohe-Schicht« nach dem Erstarren noch mit ca. 3 cm neutraler Bouillon überschichtet. Bestand die verdächtige Kolonie aus Typhusbazillen, so wachsen sie in die Bouillon hinein und machen sie vollständig trüb; die »hohe Schicht« selbst ist ganz von Typhusbazillen durchwachsen und leicht getrübt (Säurebildung).

Auch zur Paratyphusdiagnose ist die Milchzucker-hohe-Schicht geeignet. Im gewöhnlichen Agar, also auch im Milchzuckeragar, finden sich stets Spuren von Traubenzucker. Vergärung von diesen Spuren von Traubenzucker führt nie zu einer vollständigen Zerreifsung des Agars, sondern nur zu einer gröfseren Anzahl kleinerer Gasblasen, ohne dafs die Agarsäule zerrissen wird. Dieses Bild des von vielen kleinen Gasblasen durchsetzten Milchzuckeragars ist recht charakteristisch für die Paratyphusgruppe und für die übrigen Traubenzuckervergärer, die Milchzucker nicht vergären.

Im Gegensatz hierzu zerreifsen die Milchzucker vergärenden Koliarten den Milchzuckeragar vollständig. Anderseits rufen Typhus- und Dysenteriebazillen die ja weder Milchzucker noch Traubenzucker vergären, gar keine Gasblasen in dem Milchzucker hervor.

Aufser dem Auftreten von Gasblasen ist aber, wie bemerkt, darauf zu achten, ob Wachstum in der ganzen »hohen Schicht« und Trübung des Agars auftritt (Typhus, Paratyphus, Dysenterie). Auch die Bouillon mufs bei diesen drei Arten vollständig getrübt sein. Der hängende Tropfen zeigt die typischen Merkmale, das gefärbte Präparat zeigt gram-negative Stäbchen. Alsdann läfst sich mit einem Teile der Bouillon (nach Abimpfung einer Öse auf schrägen Agar zur Konservierung der Kultur) die Indolreaktion und mit dem Rest eine probatorische makroskopische Agglutination anstellen (Zusatz einiger Tropfen entsprechenden Serums in einer Verdünnung 1 : 100).

entstehen kleine Blasen im Milchzucker wie beim Paratyphus. Im zweiten aber wird der Milchzucker total auseinandergerissen. Wir kommen auf dieses verschiedene Verhalten später noch zu sprechen.

Der Gelatinestich zeigt sich als weifser, scharf begrenzter Strang. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

In der gegossenen Agarplatte haben die Kolonien Linsenform, in deren Mitte einen Nabel.

In gegossenen Gelatineplatten zeigen die Kolonien eine leichte rosettenförmige Zeichnung. Die oberflächlichen sind rund, flach, ohne Zeichnung. Die Farbe ist leicht gelblich.

Sämtliche Kulturen sind beinahe geruchlos.

Indolbildung konnte nie nachgewiesen werden (Ehrlichsche Indolreaktion).[2]) Das Koli reduziert Methylenblau nach der von M. Neifser und Wechsberg angegebenen Methode.

In Barsiekowschen Nährböden verhielt sich das Bakterium folgendermafsen: Die mit Polysacchariden, Dextrin und Inulin versetzten Nährböden wurden nicht verändert. Von den Disacchariden wurden Rohrzucker nicht zersetzt, bei Zusatz von Maltose entstand Rötung und Gerinnung in den Reagensröhrchen. Auf Laktose hatte das Koli auch in den Barsiekow-Nährböden einen verschiedenen Einflufs, je nachdem junge knötchenlose oder alte knötchenhaltige Kolonien verimpft wurden. Im ersten Falle blieb die Farbe unverändert und das Röhrchen klar, im letzteren entstand Rötung und Gerinnung. Bei allen anderen Zusätzen zu Barsiekow-Nährböden war es gleichgültig, ob knötchenlose oder knötchenhaltige Kolonien verimpft wurden. Von Monosacchariden wurde Galaktose und Dextrose untersucht, in beiden entstand Rötung und Gerinnung, bei Traubenzuckerzusatz schon am 1. Tage, bei Zusatz der übrigen Zuckerarten erst am 2. Tage, wenn dies überhaupt zu sehen war. Beim Mannitzusatz trat Rötung und Gerinnung auf.

Auf das Verhalten den Tieren gegenüber komme ich am Schlusse dieser Untersuchung zu sprechen.

Ob das Koli die Ursache der Erkrankung des Patienten gewesen ist, läfst sich nicht entscheiden. Blut zur Agglutination

konnte wegen des kurzen Spitalaufenthaltes nicht erhalten werden und in seither untersuchten Stühlen habe ich nie mehr ein Bakterium gefunden, welches mit dem meinigen identisch gewesen wäre.

B. Die Mutation.

Die zweite Eigenart unseres Bakteriums besteht darin, dafs nicht alle Keime zu gleichmäfsigen Kolonien auswachsen, sondern dafs unter bestimmten Bedingungen einzelne Keime variieren und ihre neu erhaltene Eigentümlichkeit sofort konstant weiter vererben. Wird das Koli auf Endoplatten weiter gezüchtet, so dafs der neue Satz immer von einer isolierten Kolonie des vorhergehenden Satzes ausgeht, so sieht man nach einigen Umzüchtungen neben den weifsen Kolonien rote auftreten.[1]) Diese letzteren sind nach 16 Stunden nicht von den früher beschriebenen farblosen Kolonien zu unterscheiden, nach 18—20 Stunden aber erhalten sie einen roten Nabel und nach 36—48 Stunden sind sie ganz rot und zeigen den für das Bacterium coli commune typischen metallischen grünen Fuchsinglanz. Am 2. und 3. Tage sind sie durchschnittlich gröfser als die weifsen Kolonien, bleiben aber in den nächstfolgenden Tagen an Gröfse hinter den letzteren bedeutend zurück. Die roten Kolonien erhalten nie Knötchen, wie ich sie im ersten Teil der Arbeit als für die weifsen Kolonien charakteristisch beschrieben habe. Wird nun von einer roten Kolonie wieder abgeimpft, und ein neuer Endosatz ausgestrichen, so entstehen nur rote Kolonien, keine einzige weifse, und auch bei weiterer Verimpfung bleiben alle folgenden Generationen rein rot, es gelingt nie mehr, auf Endo eine weifse Kolonie zu erhalten.

Anders dagegen verhält sich die Sache bei Verimpfung einer weifsen Kolonie. Hier können nach einiger, meist kurzer Zeit,

1) Ich werde im folgenden der Kürze halber oft von weifser und roter Kolonie sprechen. Es sind dann damit jeweils die im ersten Teile beschriebenen farblosen Kolonien resp. die im zweiten Teile untersuchte Varietät gemeint, auch rote oder weifse Bakterien sind solche, welche, wenn sie auf Endonährboden gebracht werden und zur Vermehrung kommen, zu einer roten resp. weifsen Kolonie auswachsen.

neben den weifsen Kolonien wieder rote auftreten, welche wiederum bei weiteren Verimpfungen rot bleiben. Die weifsen Kolonien behalten auch auf rotweifsen Platten neben den roten Kolonien ihr typisches Verhalten bei und erhalten vom 3. Tage an Knötchen. Es gelingt also durch Züchtung auf Endonährboden, aus einer weifs wachsenden Form nach Belieben eine rot wachsende und rot bleibende zu erhalten. Das Experiment aus weifs wachsenden Kolonien rote zu erhalten, kann beliebig oft wiederholt werden. Ich habe diese Erscheinung ½ Jahr lang mit absoluter Regelmäfsigkeit auftreten sehen. Der beigefügte Stammbaum unseres Koli zeigt dies zur Genüge.

Um entscheiden zu können, ob es sich um eine Platte mit nur roten oder nur weifsen oder um eine solche mit roten und weifsen Kolonien handelt, bedarf es gut ausgestrichener Plattensätze. Denn bei sehr dicht stehenden Kolonien tritt nur einerlei Farbe auf, diejenige der Majorität hat das Übergewicht. So können in dichtbesäten Platten z. B. einige rote Kolonien in einer Überzahl weifser ganz übersehen werden, da die umstehenden weifsen Kolonien durch Diffusion das Rotwerden der roten verhindern. Würde dagegen eine solche rote Kolonie isoliert zum Wachsen kommen, so hätte sie den typischen Fuchsinglanz. Auf die im ersten Teile beschriebene Art aber gelingt es leicht, solche Plattensätze zu erhalten, auf welchen die roten und weifsen Kolonien deutlich voneinander zu unterscheiden sind, auch wenn beide nicht in einem gleichen Verhältnis zueinander stehen. Es schadet dann auch nichts, wenn einige Kolonien bei ihrem späteren Wachstum aneinander stofsen und sich gegenseitig an ihrer Vergröfserung behindern. Man sieht trotzdem deutlich zweierlei Arten von Kolonien, welche durch eine scharfe Linie voneinander getrennt sind, so z. B. zeigen eine rote und eine weifse oder zwei weifse eine rote Kolonie deutlich ihre Farbe oder ihre Knötchen. Die Fig. 2 zeigt schematisch einige Formen zweier oder mehrerer nebeneinander liegender Kolonien, wie sie häufig gefunden werden Auch zwei weifse, in ihrem späteren Wachstum zusammentreffende Kolonien sind meist durch eine scharfe, gut sichtbare Linie voneinander getrennt.

Es versteht sich von selbst, dafs bei der prinzipiellen Bedeutung der Versuche nie nur ein einziger Versuch angestellt wurde, sondern dafs dieser immer ein oder mehrere Male wiederholt wurde. Auch habe ich die eingehenderen Untersuchungen über die Variation erst begonnen, als ich meine Kultur mit absoluter Sicherheit als Reinkultur ansehen durfte.

Sehen wir nun zu, unter welchen Bedingungen die Aberration entsteht oder nicht zustande kommt. Nehmen wir eine weifse Platte an, so erhalten darauf die Kolonien frühestens am 2. Tage Knötchen, sie werden gröfser, erhalten neue Knötchen, weifse und rote, alle Kolonien auf dieser Platte bleiben aber weifs, auch wenn sie 14 Tage lang wachsen. Eine Kolonie, welche sich einmal als weifse manifestiert hat, bleibt weifs; ich habe nie ein Verlorengehen der Knötchen oder ein spätes Rotwerden einer weifsen Kolonie gesehen.

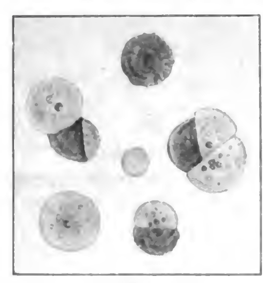


Fig. 2.

Impft man nun am ersten Tage eine Kolonie ab und streicht mit deren Bouillonaufschwemmung einen neuen Endosatz aus, so entsteht wieder eine weifse Platte, welche wiederum frühestens am 2. Tage Knötchen erhält und weifs bleibt.

Diese tägliche Abimpfung von einer weifsen Platte habe ich 20 mal hintereinander gemacht, ohne dafs jemals eine rote Kolonie neben den weifsen entstanden wäre. Alle Kolonien bekommen Knötchen und bleiben weifs, es gelingt also eine weifse Kultur auf Endoagar weifs weiter zu züchten.

Lassen wir aber unsere erste Platte, von der die ganze Reihe ausgegangen ist, 4 Tage im Brutschrank stehen und impfen dann ab, so erhalten wir auf der nun ausgestrichenen Endoplatte rote Kolonien neben den weifsen. Wir erhalten also bei Abimpfung am ersten Tage einen weifsen, am 4. aber einen

rotweifsen Plattensatz, trotzdem die Mutterkolonie weifs geblieben war und weifs bleibt. Das gleiche Resultat können wir mit allen 20 Platten, welche durch tägliche Abimpfung entstanden sind, erhalten. Jede einzelne gibt einen rotweifsen Tochtersatz, wenn erst nach 4 Tagen abgeimpft wird, trotzdem sie selbst weifs bleibt.

Wir kennen also hieraus schon eine wesentliche Bedingung, welche zur Bildung der Variation nötig ist: Die Kolonie mufs ein gewisses Alter haben. Diese Zeit, welche vergehen mufs, bis eine Abimpfung einen rotweifsen Plattensatz gibt, ist nicht konstant. Während im März 1906 die Abimpfung am 3. oder 4. Tage regelmäfsig zu einem rotweifsen Endosatz führte, konnte im Oktober 1905 ein Neuausstrich von Platten, welche am 5. Tage abgeimpft wurden, noch rein weifse Töchtersätze zur Folge haben, einmal sogar entstand noch bei Abimpfung am 8. Tage ein weifser Endosatz. Im allgemeinen ist es aber so, dafs die mit Knötchen versehenen Kolonien bei Verimpfung rotweifse Endosätze bilden. Ich werde später noch einmal hierauf zu sprechen kommen.

Die zweite Bedingung, welche zum Auftreten von roten und weifsen Kolonien auf der Endoplatte nötig ist, ist das Vorhandensein von Milchzucker im Nährboden. Die Rotweifsbildung wurde, wie die Knötchen, zuerst auf Endoagar beobachtet Sie verläuft aber ganz parallel auf dem Conradi-Drigalsky-Nährboden, auch auf gewöhnlichem Milchzucker tritt die Variation auf. Als Kriterium der weifsen Kolonien müssen, da auf gewöhnlichem Agar die Farben fehlen, das Auftreten der Knötchen resp. das Fehlen derselben nach dem 3. Tage angenommen werden. Angestellte Kontrollimpfungen ergaben, dafs dies erlaubt ist. Abimpfungen von knötchenhaltigen Kolonien von Milchzuckeragar auf Endoagar ergab weifsrote Plattensätze; bei Abimpfungen von knötchenlosen Kolonien erhielt man dagegen stets einen rein roten Plattensatz, ein Beweis dafür, dafs die Mutterkolonie schon einer auf Endo rot wachsenden Kolonie entsprochen hat. Natürlich müssen zu diesen Versuchen alleinstehende, grofse Kolonien gewählt werden, da ja in kleinen überhaupt keine Knötchen auftreten. Ebensowenig wie die Knötchen, konnte die

Variation auf einem anderen als auf einem Milchzuckernährboden erhalten werden. Die weifse Form des Koli läfst sich auf gewöhnlichem Agar monatelang fortzüchten, sie wird nie zu einer roten. Auch auf Mannit-, Traubenzucker- und Dextrin-Agar wurde die Erhaltung einer Variation versucht, auch hier vergeblich. Von Dextrinagar impfte ich von einer 14 Tage alten alleinstehenden grofsen Kolonie ab, ohne eine Variation zu erhalten.

Da man an die Möglichkeit denken konnte, dafs die rote Modifikation eine Degenerationsform der weifsen sei, so versuchte ich durch Schädigung einer weifsen Kultur eine rotweifse zu erhalten. Ich liefs daher Agarsätze in einem auf 42° eingestellten Brutschrank wachsen; nach 6 Tagen waren sie noch rein weifs, wie ich mich durch eine Kontrolle vergewisserte. Die längere Züchtung im 42° Brutschrank gelang nicht, da die Kultur so geschwächt war, dafs sie nicht mehr anging. Ein zweiter Versuch mit 41° ergab das gleiche Resultat bei einer Dauer von 19 Tagen.

Da Schierbeck gezeigt hatte, dafs Milchsäurebakterien durch Karbolsäurezusatz ihr Säuerungsvermögen dauernd vermindern können, probierte ich, ob nicht die rote Form durch Karbolzusatz zum Agar hervorgerufen werden könne. Es wurden nach Schierbeck 0,2, 0,4, 0,8, 1,6 ccm einer 3proz. Karbolsäure zu 15 ccm Agar gebracht und auf den damit gegossenen Platten unser Bakterium ausgestrichen. Auf den beiden Karbolagarplatten mit 0,8 und 1,6 ccm Karbolsäure zu 15 ccm Agar wuchs das Bakterium überhaupt nicht, dagegen liefs es sich bei schwächeren Konzentrationen weiter züchten. Die Kultur war im ganzen 17 Tage lang auf Karbolnährboden gewachsen, ohne die Variation gebildet zu haben. Auch dieser Versuch wurde wiederholt. Das gleiche negative Resultat gab eine Züchtung auf Nährboden mit verschiedenem Alkali- oder Säuregehalt.

Bei der Tierpassage wurde, wie zu erwarten stand, da das Koli als weifse Modifikation gezüchtet wurde, die rote Abart nicht gebildet. Es wurde ein Meerschwein durch Intraperitonealinjektion getötet und aus dem Exsudat die Bazillen auf Agar wieder herausgezüchtet. Damit wurde wieder ein Meerschwein intra-

peritoneal geimpft und dieser Versuch viermal wiederholt. Aus dem letzten Meerschwein wurde wieder auf Endoagar gezüchtet, es zeigte sich, dafs noch keine roten Bakterien aufgetreten waren[1]). Die auf Endo entstandene rote Abart zeigt in allem übrigen kulturell und morphologisch die gleichen Eigenschaften wie sie Seite 275 für die weifse Kolonie beschrieben worden sind. Nur in allen Nährböden mit Milchzuckerzusatz zeigt sich eine Differenz zu den letzteren. Das weifse Koli, in hohe Schicht verimpft, zeigt nur ganz kleine Bläschen, die rote Abart dagegen zersetzt den Milchzuckeragar in hoher Schicht vollständig wie das Bacterium coli commune. Analog verhält sich der Unterschied in Barsiekowschen Nährböden mit Milchzuckerzusatz. Hier bleibt das mit einer weifsen Kolonie geimpfte Röhrchen klar, wird höchstens nach 4—5 Tagen ganz schwach gerötet, während in dem mit einer roten Kolonie geimpften Röhrchen schon am 2. Tage Gerinnung und starke Rötung auftritt. Aus diesem Verhalten der roten Kolonien und aus dem Zusammenhang dieser mit dem Knötchen erklärt sich auch leicht der auf Seite 277 beschriebene Unterschied zwischen knötchenfreien und knötchenhaltigen Kolonien in Milchzuckernährböden. Dafs das rote Bakterium auf Conradi-Drigalsky-Agar analog dem Wachstum auf Endoagar ebenfalls rot wie das Bacterium coli commune wächst, ist selbstverständlich.

Die Fähigkeit, Milchzucker anzugreifen, behält das Bakterium auf allen gebräuchlichen Nährböden und den mit dem auf Seite 275 beschriebenen Zuckerarten versetzten Agarplatten bei. Auch

1) In allen Fällen, in denen das weifse Koli einige Zeit auf anderen als Endonährböden gezüchtet oder unter andere Bedingungen gebracht wurde, wurde dasselbe nach Beendigung des Versuchs zur Kontrolle wieder auf Endoagar zurückverimpft. In allen Fällen traten, wenn das Koli weifs geblieben war, nach 2—4 Tagen in diesen zurückgeimpften Kolonien wieder Knötchen auf, eine dann von dieser Kontrollplatte vorgenommene Abimpfung hatte wieder eine Rotweifs-Bildung zur Folge. Das wieder auf Endoagar zurückgeimpfte Bakterium verhielt sich dann ganz so, wie es sich vor seiner experimentellen Übertragung auf einen anderen Nährboden verhalten hatte. War dagegen eine Variation zu Rot eingetreten, wuchsen auf dem zur Kontrolle dienenden Endosatz auch rote, bei weiterer Verimpfung rot bleibende Kolonien.

nach langer Züchtung ohne Milchzucker wächst die rote Variation, auf Endo gebracht, sofort wieder rot.

Als Hauptsätze dieses zweiten Abschnittes fasse ich folgende Thesen zusammen:

VII. Läfst man eine Milchzucker enthaltende Platte mit nur weifsen Kolonien beliebig lange stehen, so entstehen in der weifsen Kolonie wohl Knötchen, aber es wird niemals aus einer weifsen Kolonie eine rote.

VIII. Wird von einer solchen weifsen und sicher weifsbleibenden Kolonie innerhalb der ersten 24 Stunden abgeimpft, so entstehen Platten mit nur weifsen Kolonien, welche Knötchen erhalten und mit Sicherheit weifs bleiben. Diese Abimpfung von weisfen und weifsbleibenden Kolonien innerhalb 24 Stunden des Wachstums kann beliebig oft fortgeführt werden, ohne dafs jemals andere als weifse, späterhin Knötchen zeigende Kolonien auftreten.

IX. Wird aber von einer solchen Platte nach dem 2. Tage abgeimpft, so entstehen mit absoluter Regelmäfsigkeit Platten mit weifsen und roten Kolonien. Das Auftreten von weifsroten Platten kommt gewöhnlich erst bei Abimpfung von 4—5 Tagen alten Kolonien vor, seltener bei 3 tägigen. Dafs in sehr seltenen Ausnahmefällen bei Abimpfung von zweitägigen Kolonien rotweifse Platten entstehen, beweisen 2 unter einer grofsen Anzahl von Versuchen vorgekommene Fälle.

X. Abimpfung von einer roten Kolonie, gleichgültig in welchem Stadium sie erfolgt, ergibt ausnahmslos rote Kolonien.

XI. In roten Kolonien ist niemals eine Knötchenbildung zu sehen.

XII. Wird eine eintägige weifse Kolonie auf irgendeinen anderen nicht Milchzucker haltigen Nährboden verpflanzt, und zwar ebenfalls in Form des Plattenausstriches, so können diese viele Tage lang stehen, ohne dafs bei der

Rückimpfung auf Endoagar rote Kolonien entstehen. Es bleiben vielmehr alle Kolonien dauernd weifs. (Eine Abimpfung von diesen zurückverimpften Kolonien nach dem 3. Tage ergibt natürlich wieder weifsrote Platten.)

XIII. Die rote Variation behält ihre Eigenschaften auch bei, wenn sie auf nicht Milchzucker haltigen Nährböden gezüchtet wird.

C. Das Verhalten der Knötchen zur Mutation.

Vergleichen wir das Auftreten der Variation mit dem der Knötchen, so fällt uns sofort die grofse Übereinstimmung in den Bedingungen, welche zu deren Entstehung nötig sind, auf. Beide brauchen einige Zeit bis zu ihrer Bildung, beide entstehen nur auf Zusatz von Milchzucker zu den Nährböden. In der Tat können die Knötchen als rote Kolonien in den weifsen angesehen werden. Dafs die Knötchen auch weifs sein können, spricht nicht gegen diese Auffassung. Denn, wie schon früher bemerkt, kann eine Überstimmung der roten Kolonien durch ein Übergewicht der weifsen stattfinden. Auch dem Einwand, dafs die Knötchen darum keine roten Kolonien sein können, weil es vorgekommen ist, dafs Abimpfungen am 5. Tage trotz Vorhandenseins von Knötchen nur weifse Kolonien entstehen liefsen, läfst sich leicht begegnen. Auf einer schön ausgestrichenen Platte haben nur ca. 500 Kolonien Platz, wenn sie nicht gegenseitig aneinanderwachsen sollen. Ist nun das Verhältnis der roten Bakterien zu den weifsen in einer Kolonie gröfser als 1 : 500, so ist es klar, dafs Platten entstehen können, auf welchen nur weifse Kolonien wachsen, trotzdem auch rote in dem zur Impfung benutzten Material waren. Dafs das Verhältnis zwischen roten und weifsen gröfser sein kann als 1 : 500, läfst sich leicht denken, gibt es doch Kolonien mit sehr wenig Knötchen, und kommen doch am Rande der Kolonien, der einen grofsen Teil der Gesamtmasse derselben ausmacht, keine Knötchen vor. Dafür, dafs die Knötchen rote Kolonien sind, sprechen noch andere Beobachtungen. Bei den zwei schon früher erwähnten Ausnahmen, in denen

die Abimpfung schon am zweiten Tage zu rotweifsen Platten führte, traten ausnahmsweise auch die Knötchen schon so früh auf.

Auch folgende zwei Versuche beweisen, dafs zum Auftreten der Variation Knötchen verimpft werden müssen. Den einen erwähnte ich schon. Es handelt sich um die tägliche Verimpfung von weifsen Kolonien, hier gab es keine Knötchen und keine Variation. Ein paralleler Versuch ist folgender: Statt eine junge eintägige Kolonie ohne Knötchen abzuimpfen, wird sehr sorgfältig vom Rande einer alten Kolonie abgestochen, ohne ein Knötchen mitzunehmen. Es gelingt so ebenfalls, nur weifse Sätze weiter zu züchten. Wenn keine Knötchen mitverimpft werden, tritt also keine Variation auf. Wird anderseits möglichst nur von Knötchenmaterial zu einer neuen Aussaat genommen, so erhält man fast rein rote Platten. Die wenigen weifsen Kolonien entstehen aus mitgerissenen Partikeln der weifsen Kolonie, da es praktisch nicht möglich ist, nur von Knötchen stammendes Material zu erhalten. Je sorgfältiger aber von Knötchen abgeimpft wird, desto eher entstehen Plattensätze mit nur roten Kolonien; dabei ist es gleichgültig, ob rote oder weifse Knötchen verimpft werden. Auch die weifsen Knötchen sind variierte Bakterien, nur wird hier das Freiwerden des Fuchsins durch einen von der übrigen Kolonie gebildeten Stoff verhindert. Sobald diese weifsen Knötchen aber abgestochen und zu einer weiteren Aussaat verwendet werden, entsteht ein rotweifser Plattensatz, auch hier mit um so weniger weifsen Kolonien, je sorgfältiger nur von Knötchen abgeimpft wurde.

Die Knötchen sind also rote Kolonien, welche in weifsen entstehen. Die Variation entsteht daher nicht bei der Aussaat einer neuen Kultur, sondern in schon einige Zeit gewachsenen Kolonien und zwar in den ältesten Teilen, Mitte der Kolonie und gegen die Agarfläche zu. Die Beeinflussung durch eigene Sekrete der Bakterien scheint demnach zur Entstehung der Variation nötig zu sein.

Die Variation, welche sich durch Auftreten der Knötchen bemerkbar macht, tritt plötzlich auf. Die neu entstehenden roten Bakterien unterscheiden sich sofort deutlich von den alten

weifsen durch ihre Fähigkeit, Milchzucker unter Gasbildung zu zersetzen. Es fragt sich nun, wie fest wird diese neue Fähigkeit beibehalten? Wie ich schon Seite 34 bemerkte, wächst ein einmal rot gewordenes Bakterium auf allen gebräuchlichen Nährböden als rotes. Aber nicht nur auf diesen, sondern auch bei Zusatz von schädigenden Stoffen geht diese Fähigkeit nicht verloren. Es gelang mir nur ein einziges Mal, aus einer roten Kolonie wieder weifse zu erhalten. Als wichtigen Versuch beschreibe ich ihn etwas ausführlicher.

Von einer weifsroten Platte wurde eine junge rote Kolonie entnommen und in Bouillon aufgeschwemmt. Von dieser gleichen Bouillon wurden je drei Ösen auf Agarplatten mit Karbolzusatz und auf solchen mit verschiedenen Alkalitäts- und Säuregraden ausgestrichen. Der Karbolgehalt wurde so stark als möglich gewählt, so dafs das Koli eben noch darauf zum Wachstum kam, nämlich 0,3 einer 3 proz. Karbolsäure auf 15 ccm Agar. Als Agar mit verschiedener Reaktion wählte ich einen gegen Lackmus leicht sauer resp. leicht alkalisch reagierenden Nährboden. Zur Kontrolle wurden drei Ösen dieser gleichen Bouillon auf Platten mit gewöhnlichem Agar zur Verteilung gebracht. Alle Platten wurden am 14. II. ausgestrichen. Am 19. II. wurden von jeder Platte einige Kolonien in Bouillon aufgeschwemmt und damit wieder Plattensätze ausgestrichen, natürlich die Kolonien, welche auf Karbolagar gewachsen waren, wieder auf Karbolagar etc. Es wurden ausnahmsweise e i n i g e Kolonien miteinander abgeimpft, da man ja nicht wissen konnte, welche der Kolonien event. weifs geworden sein könnte, da die weifse Art auf Karbolnährböden ja gleich wächst wie die rote. Wenn ich daher viele Kolonien abimpfte und zur neuen Aussaat verwendete, hatte ich eher die Möglichkeit, eine weifse unter den roten zu finden.

Am 1. III. wurden von der karbolhaltigen Platte mehrere Kolonien abgestochen und mit einer Öse nebeneinander auf Endoagar ausgestrichen. Diese Kulturen auf Endoagar waren weifs und blieben weifs. Am 3. III. zeigten sich an einer am Rande des Impfstriches stehenden einzelnen Kolonie Knötchen, eine Abimpfung von diesen gab wieder einen rotweifsen Satz. Von den auf leichtsaurem Nährboden gewachsenen Kolonien wurde am 6. III. in gleicher Weise auf Endoagar abgeimpft, und auch hier wuchsen die Kolonien weifs. Von diesem Endoausstrich ergab eine Abimpfung 6 Tage später einen rotweifsen Plattensatz. Ebenfalls am 6. III. wurde von der alkalischen Agarplatte und am 7. III. von der neutralen Agarplatte in gleicher Weise wie oben beschrieben von mehreren Kolonien abgeimpft. Auf diesen letzteren zwei Platten war aber die Kultur rot geblieben. Es war keine einzige weifse Kolonie zu finden. Um zu sehen, ob nicht vielleicht noch später ein Umschlag zu weifs vorkommen könnte, wurde die Züchtung auf alkalischem resp. neutralem Agar fortgesetzt und zwar bis zum 9. IV. Bei jeder neuen Umzüchtung wurden Seitenzweige auf Endoagar übertragen. Diese

Kolonien zeigten, dafs die Kultur bis zum Schlusse des Versuches (9. IV.) rot geblieben war. Es gelang also in einem Falle, die rote Variation wieder zur weifsen zurückzuführen. Dafs dies nicht immer gelingt, beweist uns, dafs die neue Variation ihre erst seit kurzem erlangte Eigenschaft sehr festhält und weiter vererbt.

Die Rückzüchtung von rot zu weifs scheint nach einem anderen Modus zu erfolgen als die Bildung von weifs zu rot. In letzterem Falle werden nur einige Bakterien in der weifsen Kolonie rot, während im ersten Falle die ganze Platte von rot zu weifs umschlägt. Da aber dieser Rückschlag zu rot während der Entstehung nicht beobachtet werden konnte, wie die Entstehung der roten Variation in den weifsen Kolonien auf dem Endoagar, sondern sich erst bei einer Übertragung auf Endoagar als vollendete Sache zeigte, kann ich diese Vermutung nicht beweisen. Sicher ist, dafs keine Knötchen aufgetreten sind (es müfste sich denn um Knötchen weifser Bakterien in roten Kolonien handeln).

Die Tatsache aber, dafs die Rückbildung von rot zu weifs gelungen ist, ist ein letzter zwingender Beweis dafür, dafs unsere Kultur eine Reinkultur ist.

Unsere Zusammenfassung für diesen 3. Teil der Arbeit lautet demnach:

XIV. Die beschriebenen weifsroten Platten treten nur auf, wenn Knötchen mitverimpft wurden.

XV. Abimpfungen von jungen Kolonien vor dem Auftreten der Knötchen läfst weifse Plattensätze entstehen. Ebenso führt Abimpfung vom knötchenlosen Rand auch alter Kolonien zum Entstehen weifser Sätze.

XVI. Werden möglichst nur Knötchen verimpft, so erhält man fast rein rote Plattensätze. Die Knötchen können daher als rote Kolonien in den weifsen aufgefafst werden.

XVII. Die rote Varietät hält ihre neu erworbene Eigenschaft auch unter abnormen, schädigenden Bedingungen fest. Nur einmal ist es unter bestimmten Bedingungen gelungen, die rote Varietät wieder in die weifse zurückzuführen.

Zum Schlusse möchte ich noch einiges über meine Tierversuche bemerken. Das Bakterium ist nicht stark tierpathogen, doch gelingt es durch grofse Dosen, die gebräuchlichen Versuchstiere zu töten. Für eine Maus ist die tödliche Dose bei intraperitonealer Injektion eine drittel Öse einer Agarkultur. Die Meerschweinchen sterben nach intraperitonealer Injektion von einer halben Agarkultur. Die Dosen von einer roten Kultur sind ebenso grofs als die für die weifsen. Eine Virulenzsteigerung konnte bei der Meerschweinchenpassage nicht konstatiert werden. Die Kaninchen sind sehr verschieden resistent gegen dieses Bakterium. Die Immunisierung derselben gelingt nur schwer, und ich habe nur mit äufserster Mühe auch nur schwach agglutinierende Sera erhalten. Ich immunisierte Kaninchen einesteils mit Agarkulturen, welche von knötchenhaltigen Kolonien stammten, später als ich erkannte, dafs die Knötchen schon rote Bakterien sind, mit Kulturen, welche am 1. Tage von weifsen Kolonien abgestochen waren, anderseits mit von roten Kolonien abgeimpften Kulturen. Sowohl bei subkutaner als auch intraperitonealer oder intravenöser Einführung der Bakterien führte die Immunisierung nicht zu einem richtigen Ziele. Der höchste Titer, den ich erhielt, war 1 : 640. Wurde aber versucht, die Immunisierung weiter zu treiben, so starben die Tiere ausnahmslos. Sera von einem Titer 1 : 320 waren nicht schwer zu erlangen, auch nach wenigen Injektionen. Die rote und weifse Bakterienart wurde durch alle Kaninchensera gleich hoch agglutiniert. Die Agglutination mit diesem Koli ist da, wo sie überhaupt auftritt, sehr stark, makroskopisch leicht sichtbar und geht bei weiterer Verdünnung des Serums ohne Übergang in das vollständige Fehlen der Agglutination über. Auch Versuche, mit einer Immunisierungsmethode nach Bail höhere Titer zu erlangen, mifslangen. Die nach Bail erhaltenen Exsudate zeigten sehr verschieden starke Giftigkeit, während einige Male 5 und 10 ccm eines Pleuraexsudates bei intravenöser Injektion ohne weiteres ertragen wurden, erhielt ich einmal ein Exsudat, bei welchem die Kaninchen noch bei einer Injektion von 0,1 ccm während der Injektion starben. Luftembolie war ausgeschlossen. Der Tod trat

viel schneller, aber ohne die stürmischen Erscheinungen, wie sie bei der Luftemboli vorkommen, ein, aufserdem wurde der Versuch mit allen Kautelen nochmals mit dem gleichen Resultat wiederholt. 0,1 ccm dieses Exsudates, mit 9 Teilen physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, wurde jedoch ertragen.

Die untenstehende Tabelle zeigt eine Austitrierung eines Kaninchenserums gegen rote und weifse Bakterien unseres Koli und gegen andere Bakterienarten.

Tabelle I.

Verdünnung	Koli weiß	Koli rot	Paratyphus $\alpha + \beta$	Typhus	Dysenterie Typ. Flexner	Dysenterie Shiga
1 : 20	+++	+++	0	+	+	0
1 : 40	+++	+++	0	0	0	0
1 : 80	+++	+++	0	0	0	0
1 : 160	+++	+++	0	0	0	0
1 : 320	+++	+++	0	0	0	0
1 : 640	0	0	0	0	0	0
Kontr.	0	0	0	0	0	0

Eine sehr interessante Erscheinung möchte ich hier nicht unerwähnt lassen, welche aber wegen der sehr verschiedenen Empfindlichkeit der Kaninchen nicht konstant zu erhalten war. Wurde einem Kaninchen eine Dosis intravenös injiziert, welche in der Höhe der Dosis letalis minima stand, und ca. 0,5 ccm einer dichten Agaraufschwemmung betrug, so kam das Kaninchen davon oder blieb tagelang am Leben oder es starb in der folgenden Nacht. Wurde diese Menge von 0,5 ccm aber am 2. Tage an einem noch lebenden Tiere wiederholt, so entstand in einer grofsen Anzahl der Versuche ein eigentümlicher Symptomenkomplex. Das Tier war gerade nach der Injektion ganz munter, nach etwa $^1/_4$ Stunde aber bekam das Tier starke Dyspnoe, Lähmungen in den hinteren Beinen und oft einen deutlichen Drehschwindel. Nach $^1/_2$ Stunde starben die Tiere nach kurzen Zuckungen. Bei der Sektion war das Blut sehr dunkel, mit ziemlich viel Gerinsel, die Peritonealgefäfse waren stark injiziert, sonst konnte nichts

Abnormes bemerkt werden. Keine Hämolyse des Blutes. Die Tiere aber, welche auch auf diese 2. Injektion nicht innerhalb ½ Stunde unter den beschriebenen Symptomen zugrunde gingen, hatten die Infektion meist überstanden, doch zeigten auch sie in der ersten ½ Stunde eine auffallende Dyspnoe und oft auch Lähmungen, welche Erscheinungen aber wieder zurückgingen. Starben von diesen Tieren später noch in der Nacht oder in den folgenden Tagen welche, so gingen sie so zugrunde wie die Tiere, welche eine einmalige zu hohe Dosis erhalten haben. Man konnte also deutlich unterscheiden zwischen einer akuten, innerhalb ½ Stunde unter den angeführten Erscheinungen zum Tode führenden Vergiftung bei zweimaliger Injektion an 2 aufeinanderfolgenden Tagen und dem erst nach einem oder mehreren Tagen erfolgenden Tode durch eine einmalige zu hohe Dosis. Ich stelle hier eine Tabelle zusammen aus meinen Protokollen über diese Versuche. Wo »lebt« bemerkt ist, lebte das Tier mindestens eine Woche, meist lebte es länger und wurde zur weiteren Immunisierung benutzt.

Tabelle II.

Kaninchen Nr.	I. Injektion	II. Injektion einen Tag später	Resultate	Bemerkungen
645	0,5	0,5	† nach 30 Min.	
646	0,5	0,5	† » 30 »	
648	0,5	0,5	getötet nach 1 Std. in der Agonie.	**)
650	0,5	0,5	† nach 14 Min.	
659	0,5	0,5	† » 25 »	*)
665	0,5	0,5	† » 23 »	
666	0,5	0,5	getötet n. 30 Min. in der Agonie.	**)

*) Kaninchen 659 wurde 8 Stunden nach der ersten Injektion zum zweiten Male injiziert.

**) Die Tiere wurden in der Agonie getötet, um nachher das Blut zur Injektion anderer Tiere zu gewinnen, aber erst nachdem ich die Gewifsheit gewonnen hatte, dafs sie innerhalb der nächsten Minuten sterben würden. Die Tiere lagen schon auf der Seite, hatten sehr starke Dyspnoe, zeigten spontan keine Bewegung mehr.

Zur Kontrolle diene die folgende Tabelle:

Tabelle III.

Kaninchen Nr.	I. Injektion	II. Injektion	Resultate	Bemerkungen
644	1,5	—	lebt	
656	1,0	—	»	
658	0,5	0,5	»	
664	0,5	0,5	»	III. Inj. 0,5 am III. Tage lebt.
669	0,5	0,5	»	
670	0,5	0,5	»	
657	1,0	—	† 2 Tage später	
663	0,5	0,5	do.	
651	0,5	—	† in der Nacht.	
647	0,5	0,5	nach 3 Stunden getötet.	nach 1 Std. matt, erholt s. wieder.

Ähnliche Resultate erhielt ich durch Injektion eines Giftes, das durch Filtration einer 14 tägigen Bouillonkultur durch Reichelt-filter erhalten wurde. Auch hier entstand entweder akuter Tod auf der einen Seite oder Überleben bzw. später Tod auf der anderen Seite. Doch waren hier die Resultate nicht so deutlich, da oft nur eine Schwäche auftrat innerhalb $^1/_2$ Stunde, nachher aber wieder Erholung. Zur Erklärung dieses Phänomens können wohl kaum die neuerdings untersuchten Reaktionen bei Serumüberempfindlichkeit herangezogen werden, da die Zeit zur Bildung eines Antikörpers zu kurz ist. Man mufs wohl eher an eine besonders ungünstige Kumulierung oder eine besondere Art der Überempfindlichkeit denken.

Das Blut der in der Agonie geschlachteten Tiere wurde anderen Kaninchen in die Ohrvene injiziert, nachdem es vom Fibrin befreit worden war. Es wurde in sehr grofsen Mengen, bis zu 30 ccm, ertragen, ohne auch nur eine Spur von Krankheitserscheinungen zu machen. Das Serum dieser Tiere agglutinierte nach 9—14 Tagen unser Bakterium in niederen Verdünnungen.

Aus äufseren Gründen konnte ich mich mit dem Tierversuche nicht weiter abgeben. Als für unsere Arbeit wichtig hebe ich hervor, dafs kein Unterschied in der Agglutination ver-

schiedener, durch Injektion von roten oder weifsen Kulturen erhaltener Sera gegen die rote und weifswachsende Koliart bemerkt werden konnte. Dieses Resultat ist ein weiterer Beweis dafür, dafs unsere Kultur eine Reinkultur ist.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Tatsachen bieten nun einiges biologisches Interesse. Nach Rodet und auch nach Beijerinck gehört die beschriebene Veränderung zur Variation im engeren Sinne. Einige Bakterien einer Kolonie gewinnen die neue Fähigkeit, Milchzucker anzugreifen und behalten diese bei, auch wenn sie auf andere Nährböden gebracht werden. Dabei sind keine Degenerationserscheinungen wahrzunehmen. Das Bakterium hatte bis dahin nur die Fähigkeit, die beiden durch Hydrolyse zu gewinnenden Bestandteile des Milchzuckers, nämlich die Dextrose und die Galaktose, zu zerlegen. Durch das Wachstum auf Milchzucker aber erhalten einige besonders dafür befähigte Keime die neue Eigenschaft, Laktase zu bilden und auch das grofse Molekül des Milchzuckers ihrem Stoffwechsel zugänglich zu machen. Das Bakterium pafst sich einer neuen Lebensweise, den Milchzucker unter Gasbildung zu zerlegen, an. Es ist daher ganz erklärlich, dafs diese neue Art nur auf Milchzucker entsteht, und nicht durch allgemeine Einflüsse herbeigeführt werden kann. Interessant dabei ist, dafs schon sehr geringe Mengen des Milchzuckers (0,1 %) zum Agar genügen, um dem Bakterium diese neue Eigenschaft zu verschaffen, und ferner, dafs diese Umwandlung eine plötzlich auftretende ist.

Diese Arbeit bildet daher einen Beitrag aus der Bakteriologie zur Mutationstheorie, wie sie Hugo de Vries für die Botanik ausgeführt hat. De Vries teilt die erblichen Variationen in zwei prinzipiell zu scheidende Gruppen ein. Die erste nennt er (individuelle, fluktuierende) Variabilität. Jede Pflanze besitzt diese in höherem oder geringerem Mafse. Der Züchter kann sie benutzen, um durch Selektion neue Rassen zu ziehen, nie aber entsteht eine neue Art. Dadurch, dafs immer die schönsten

Pflanzen einer Kultur ausgelesen und zur weiteren Züchtung benutzt werden, erhält man Rassen, welche die vom Züchter gewünschten Eigenschaften in sehr viel höherem Mafse besitzen als die Ausgangskultur. Es entsteht aber keine neue Eigenschaft. Läfst die Selektion nach, so gehen die angezüchteten Eigenschaften nach einigen Generationen wieder zurück. Ganz anders verhält es sich bei der Mutation, der zweiten Gruppe de Vries'. Bei dieser erhält die Tochter eine Eigenschaft, welche die Mutter nicht besafs. Diese neue Eigenschaft tritt plötzlich auf und wird von der neuen Art gleich zu Anfang zäh festgehalten. Eine Selektion ist unnötig; sobald die Mutation aufgetreten ist, wird sie vererbt. Dadurch, dafs dieses neue Merkmal konstant vorhanden ist, darf die Variation als eine neue elementare Art angesehen werden. Die Fähigkeit zu mutieren, besitzt nicht jede Pflanzenart und nicht jedes Individuum. Die Mutation tritt plötzlich auf und ist unbeschränkt in ihrer Richtung, es können für die neue Art nützliche oder schädliche Eigenschaften entstehen. Es mangelt mir hier der Raum, den interessanten Ausführungen von de Vries weiter zu folgen, und ich verweise daher auf sein Buch[17]). Es scheint mir aber erlaubt, seine Theorie in der Bakteriologie und speziell auf unseren Fall anzuwenden. Auch bei unserem Bacterium coli tritt die neue Eigenschaft plötzlich auf und ist sogleich für alle Nachkommen erblich. In den schon einige Zeit gewachsenen Kolonien mit vielen Millionen Bakterien entstehen am zweiten oder dritten Tag bei der Teilung einiger weniger Bakterien solche Bakterien, welche Milchzucker unter Gasbildung vergären können. Alle Generationen, welche auf dieselben folgen, besitzen diese Fähigkeit auch. Es entstehen darum, wenn man möglichst nur von Knötchen, welche die neuen Kolonien darstellen, Material zur weiteren Verimpfung benutzt, fast rein rote Platten. Jedenfalls erhält man aber ganz rote Platten, wenn man von einer auch noch so jungen roten Kolonie abimpft. Eine Selektion braucht dabei nicht stattzufinden, es brauchen keine besonderen Mafsregeln ergriffen zu werden, um die neue Eigenschaft den nachfolgenden Generationen zu erhalten; es bedarf im Gegenteil eines besonderen günstigen Zufalles, um

eine Kolonie zu finden, bei welcher es gelingt, die neuerworbene Eigenschaft rückgängig zu machen.

Wichtig dabei ist die Tatsache, dafs wir diese Mutation willkürlich durch einen ganz bestimmten Zusatz zum Nährboden erhalten können. Man wird ja auch in der übrigen Botanik äufsere Einflüsse annehmen müssen, welche den Anstofs zur Mutation geben, nur sind diese noch so unbestimmt und fein, dafs wir sie bis jetzt nicht analysieren können. Aufserdem mufs aber die Pflanze zur Mutation disponiert sein oder nach de Vries sich in einer Mutationsperiode befinden. In einer solchen Periode befinden sich nach de Vries nicht alle Arten zu gleicher Zeit, sondern nur einzelne Arten. Unser Kolistamm würde sich dann gerade in einer solchen befinden. Es erklärt sich daraus der Umstand, dafs diese Erscheinung der Knötchen- und Variationsbildung, trotz der vielen Arbeiten in dieser Gruppe, bis jetzt noch nicht bekannt ist.

Literaturverzeichnis.

1. M. W. Beyerinck, On different forms of hereditary variation of mikrobes (Kon. Akad. von Wetenschappen te Amsterdam, 27. Okt. 1900).
2. A. Böhme, Die Anwendung der Ehrlichschen Indolreakt. für bakteriologische Zwecke. Zentralbl. f. Bakt. etc. I. Abteil., Bd. XL, 1905, S. 1.
3. Channot et Thiry, Studies on chromogenie Bacteria. Notes on the pigment of Bac. polychromog. Ref.: Kochs Jahresber. 1900, S. 68.
4. Conn, Natürl. Varietäten von Bakterien. Ref. Zentralbl. f. Bakt. etc. Abt. I, Bd. XXVII, 1900, S. 675.
5. Ph. Eisenberg, Über sekund. Bakterienkolon. Zentralbl. f. Bakt. etc. Abt. I, Bd. XL, 1905, S. 188.
6. Krause, Beiträge zur Kenntnis d. Bac. pyocyaneus. Zentralbl. f. Bakt. etc. Abt. I, Bd. XXVII, 1900, S. 769.
7. W. Kuntze, Ein Beitrag zur Kenntnis der Bedingungen der Farbstoffbildung d. Bac. prodigiosus. Zeitschr. f. Hyg., Bd. XXXIV, 1900, S. 69.
8. Luckhard, Über Variabilität und Bedingungen der Farbstoffbildung bei Spaltpilzen. Ref. Koch, Jahresber. 1901, S. 81.
9. R. Neumann, Studien über die Variabilität der Farbstoffbildung bei Microc. pyog. α aur., Staphyloc. pyog. aur. und einigen anderen Spaltpilzen. Arch. f. Hyg., Bd. XXX, 1897, S. 1.
10. M. Neifser, Zur Differentialdiagnose d. Diphtheriebaz. Zeitschr. f. Hyg., Bd. XXIV, 1897, S. 443.
11. —, Über die Symbiose d. Influenzabazillen. Deutsche med. Wochenschr., 1903, S. 462.
12. H. Noefske, Neue Untersuchugnen über den Bac. pyocyaneus und die Gesetze der Farbstoffbildung. Ref. Koch, Jahresber. 1900, S. 72.
13. H. Preisz, Studien über Morphol. u. Biolog. d. Milzbrandbaz. Zentralblatt f. Bakt., Abt. 1, Bd. XXV, S. 280.
14. A. Rodet, De la variabilité dans les microbes. Paris 1894.
15. S. Ruczicka, Vergleich. Studien über d. Bac. pyoc. und Bac. fluoresc. liquef. Arch. f. Hyg., Bd. XXXIV, 1899, S. 149.
16. P. Schierbeck, Über die Variabilität der Milchsäurebakt. mit Bezug auf ihre Gärungsfähigkeit. Arch. f. Hyg., Bd. XXXVIII, 1900, S. 294.
17. H. de Vries, Die Mutationstheorie. Leipzig 1901 und 1903.

Untersuchungen über den Mechanismus nichtbakterizider Immunität.

Von

Dr. Edmund Weil,
Assistenten am Institute.

Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. (Vorstand Prof. F. Hueppe.)

Frühere Versuche, welche im Zentralblatt für Bakteriologie, Bd. 43 Heft 2 mitgeteilt wurden, haben gezeigt, dafs ein Cholera Immunserum, welches infolge Komplementmangels seine Schutzwirkung im Tierkörper eingebüfst hat, trotz Fehlens von Komplement bei Anwesenheit von Leukozyten Schutz verleiht. Dies ist aus dem Grunde von Interesse, weil eine Reihe von Autoren den Leukozyten komplementäre Fähigkeiten abspricht, eine andere Reihe von Forschern wiederum die Phagozytose für belanglos hält. Es konnte also der Beweis erbracht werden, dafs die Leukozyten in bezug auf den Endeffekt, d. h. auf die Lebensrettung, die Wirkung des Komplements vollständig ersetzen. Dies gilt für ein bakterizides Immunserum, wo Versuche im Glase und im Tierkörper bei intraperitonealer Infektion die volle Übereinstimmung ergeben, indem nur bei Anwesenheit von Immunkörper und Komplement die Umformung in Granula erfolgt.

Es gibt jedoch eine Reihe von Immunseris, bei denen eine bakterizide Wirkung nicht zur Beobachtung gelangt oder bei welchen die Differenzen zwischen Organismus und Reagenzglas ganz auffällige sind. So löst z. B normales Kaninchenserum

grofse Mengen von Milzbrandbazillen im Glase auf, im Körper ist etwas Derartiges nicht beobachtet. Andere Immunsera wiederum zeigen deutlichen Schutz und sind aufserhalb des Körpers bakteriolytisch unwirksam. So das Pestimmunserum, welches von Kolle, Hetsch und Otto deshalb als antiinfektiöses bezeichnet wurde. Durch die Entdeckung der Opsonine (Wright) oder bakteriotropen Substanzen (Neufeld) erklärte man sich die Wirkung derartig nichtbakterizider Sera so, dafs diese mit den Bakterien in Verbindung getretenen Stoffe die Bakterien leichter den Leukozyten zugänglich machen. Es ist bis heute noch nicht entschieden ob sich die Ambozeptoren mit den bakteriopen Substanzen decken.

Die nachfolgenden Untersuchungen wurden aus dem Grunde unternommen, um in den Mechanismus der nicht bakteriziden Immunität einen Einblick zu erlangen. Die Immunität gegen Hühnercholera schien deshalb geeignet, weil im Tierkörper sicher eine Bakterizidie nicht vorliegt und auch aus dem Grunde, weil den Leukozyten in bezug auf Phagozytose nur eine untergeordnete Rolle zuzukommen scheint. Die hämorrhagische Septikämie wurde schon früher einer genaueren Untersuchung unterzogen, teils um die Agressivität dieser Bakterien, teils auch um die Immunität gegen dieselben zu studieren. Durch die Aggressin-Immunisierung konnte eine bis dahin nicht bekannte hohe Immunität gegenüber den empfindlichsten Tieren erzielt und ein hochwirksames Schutzserum erlangt werden. Besonders der letztere Umstand ermöglichte es, die Wirkungsweise des Immunserums zu untersuchen. Das Hühnercholera-Immunserum wurde von Kaninchen gewonnen, welche nur steriles, zentrifugiertes Kaninchenaggressin subkutan bekommen hatten. Die genauere Immunisierungstechnik ist aus den früheren Arbeiten bekannt. Als Versuchstiere wurden fast nur Meerschweinchen[1]) verwendet, um einerseits den Infektionsverlauf in der Bauchhöhle zu verfolgen, anderseits deshalb, weil der von uns verwendete Stamm in der Keimeinzahl bei intraperitonealer Infektion auf Meerschweinchen tödlich wirkte.

1) Sämtliche Meerschweinchen waren über 300 g schwer.

Zunächst war nun die Beteiligung des Komplementes bei der übertragenen Immunität festzustellen. Bleibt ein bakterizides Immunserum (Cholera) bei Komplementmangel wirkungslos, so ist die Erklärung eine leichte; die Bakterien werden eben ohne Komplement nicht aufgelöst; anders aber liegen die Verhältnisse bei Immunseris, welche eine Auflösung der Bakterien im Körper nicht zustande bringen, wo also das Komplement die Rolle der Abtötung nicht spielen kann, wo es eigentlich keine Funktion auszuüben hätte.

Wir besitzen nun in der Erzeugung einer Präzipitation ein sicheres Mittel, um nach der üblichen Anschauung »Komplement zu binden«, und wenn man zu solchen Versuchen die Meerschweinchenbauchhöhle wählt, so kann man das in derselben enthaltene Komplement zum gröfsten Teile unwirksam machen. Die »Komplementbindung« wurde in diesen Versuchen durch Choleraextrakt und Choleraimmunserum hervorgerufen und zwar auf dieselbe Weise, wie sie in der früheren Arbeit genau beschrieben ist. Das Immunserum wurde an Meerschweinchen, wie der beifolgende Versuch zeigt, austitriert.

Versuch I. 30. IX.

Meerschweinchen 1. 0,5 Immunserum, gleich darauf $^{1}/_{10}$ ccm Bouillonkultur von Hühnercholera.

Nach 3 Stunden: Massenhaft Zellen, einzelne Bazillen.

Nach 24 Stunden: Eiter, keine Bakterien.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 2. 0,1 Immunserum, gleich darauf $^{1}/_{10}$ ccm Bouillonkultur.

Nach 3 Stunden: Zahlreiche Zellen, einzelne Bazillen.

Nach 24 Stunden: Eiter, einzelne Bazillen.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 3. 0,5 norm. Kaninchenserum, gleich darauf $^{1}/_{10}$ ccm Bouillonkultur. (Kontrolle.)

Nach 3 Stunden: Neben zahlreichen Leukozyten zahlreiche Bazillen.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Im Bauchhöhlenexsudate massenhaft Bazillen, spärliche Zellen.

Wir entnehmen daraus, dafs unser Immunserum gegen die vielfach tödliche Dosis in der Menge von 0,1 ccm Schutz verleiht, also dafs wir ein hochwirksames Schutzserum besitzen.

Der nachfolgende Versuch zeigt nun die Wirkung des Immunserums, wenn aus der Bauchhöhle das Komplement durch das komplement-bindende System entfernt ist.

Versuch II. 3. X.

Meerschweinchen 4. 2,5 Choleraextrakt + 0,1 Choleraimmunserum intraperitoneal; $^1/_4$ Stunde darauf 0,25 Hühnercholera-Immunserum + $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Wenige Zellen, zahlreiche Bazillen.

Nach 2 Stunden: Neben wenigen Zellen sehr zahlreiche Bazillen.

Nach 3 Stunden: Spärliche Zellen, massenhaft Bazillen.

Nach 6 Stunden: Wimmelnd von Bazillen.

Stirbt nach $11^1/_2$ Stunden. Im Bauchhöhlenexsudat massenhaft Bazillen.

Meerschweinchen 5. 2,5 Choleraextrakt + 0,01 Choleraimmunserum intraperitoneal; nach $^1/_4$ Stunde 0,25 Hühnercholera-Immunserum + $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Wenige Zellen, etwas weniger Bazillen als bei Meerschweinchen 4.

Nach 2 Stunden: Wenige Zellen, sehr zahlreiche Bazillen.

Nach 3 Stunden: Massenhaft Bazillen, spärliche Zellen.

Nach 6 Stunden: Wimmelnd von Bazillen, keine Zellen.

Stirbt nach $11^1/_2$ Stunden. In der Bauchhöhle massenhaft Bazillen.

Meerschweinchen 6. 2,5 NaCl intraperitoneal; nach $^1/_4$ Stunde 0,25 Hühnercholera-Immunserum + 0,1 ccm Bouillonkultur.

Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, spärliche Zellen, Phagozytose nicht sicher.

Nach 2 Stunden: Massenhaft Zellen, einzelne Bazillen, keine Phagozytose.

Nach 3 Stunden: Massenhaft Zellen, einzelne Bazillen.

Nach 6 Stunden: Massenhaft Zellen, einzelne Bazillen, keine Phagozytose.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 7. 2,5 NaCl intraperitoneal; nach $^1/_4$ Stunde 0,25 normales Kaninchenserum + 0,1 ccm Bouillonkultur.

Nach 1 Stunde: Wenige Zellen, wenige Bazillen.

Nach 2 Stunden: Massenhaft Zellen, spärliche Bazillen.

Nach 3 Stunden: Massenhaft Zellen, spärliche Bazillen.

Nach 6 Stunden: Weniger Leukozyten, sehr zahlreiche Bazillen.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. In der Bauchhöhle massenhaft Bazillen.

Wir ersehen daraus die vollständige Wirkungslosigkeit des Immunserums bei Komplementmangel. Da jedoch der Choleraextrakt für Meerschweinchen nicht ungiftig ist, so könnte leicht

der Einwand geltend gemacht werden, dafs bei einem unter dem Einflufs der Vergiftung stehenden Tier, ein Immunserum deshalb versagt. Obwohl der Einwand unberechtigt ist, da ja einerseits der Infektionsverlauf ein ganz anderer, anderseits das Doppelte des Extraktes von Meerschweinchen vertragen wird, so haben wir doch die weiteren Versuche mit dem nahezu ungiftigen ausgefällten Präzipitat angestellt.

Versuch III. 6. XI.

Das Präzipitat wurde auf die Weise hergestellt, dafs 5 ccm Choleraextrakt durch Choleraimmunserum [1]) ausgefällt wurden, der hierauf gewaschene Niederschlag in 2 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zum Versuche verwendet wurde.

Meerschweinchen 8. 0,5 Immunserum intraperitoneal; gleich darauf 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, spärliche Leukozyten.
Nach 3 Stunden: Bazillen nicht vermehrt, zahlreiche Leukozyten.
Nach 5 Stunden: Sehr spärliche Bazillen, Eiter.
Nach 8 Stunden: Einzelne Bazillen, Eiter.
Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 9. Präzipitat in 2 ccm NaCl aufgeschwemmt intraperitoneal; nach $^1/_4$ Stunde 0,5 Immunserum + 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 2 Stunden: Zahlreiche Bazillen, spärliche Leukozyten.
Nach 3 Stunden: Zahlreiche Bazillen, spärliche Leukozyten.
Nach 5 Stunden; Massenhaft Bazillen, spärliche Leukozyten.
Nach 8 Stunden: Wimmelnd von Bazillen, spärliche Leukozyten.
Stirbt nach weniger als 18 Stunden mit massenhaft Bazillen im Bauchhöhlenexsudat.

Meerschweinchen 10. 0,5 normales Kaninchenserum, gleich darauf 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal. (Kontrolle.)

Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Leukozyten.
Nach 3 Stunden: Bazillen etwas vermehrt, zahlreiche Leukozyten.
Nach 5 Stunden: Zahlreiche Bazillen, spärliche Zellen.
Nach 8 Stunden: Massenhafte Bazillen, spärliche Zellen.
Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Im Bauchhöhlenexsudate massenhaft Bazillen.

---

1) Es ist ganz gleichgültig, ob das Extrakt durch spezifisches Immunserum oder durch normales Rinderserum ausgefällt wird. Versuche, die im Institute mit Rinderserumpräzipitaten bei Milzbrand und Schweinerotlauf ausgeführt werden, zeigten in allem genau dieselbe Wirkung wie die Immunserumpräzipitate.

Es wirkt also, wie dieser Versuch zeigt, auch das Präzipitat in demselben Sinne wie das Extrakt Immunserumgemisch.

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, dafs das Immunserum seine Wirkung vollkommen einbüfst, wenn die Bauchhöhle Komplementmangel aufweist. Die Infektion verläuft trotz Anwesenheit des Immunserums so rapide, dafs sie gar nicht mit der des Kontrolltieres zu vergleichen ist. Während bei normaler Infektion mit einer bestimmten Bakerienmenge in den ersten 2 Stunden eine Vermehrung der Bakterien nicht stattfindet, indem dieselbe erst von der 3. Stunde an beginnt, setzt dieselbe beim komplementarmen Tiere sofort ein, so dafs sich in der 3. Stunde schon eine solche Menge von Bakterien vorfindet, wie beim Kontrolltierchen erst in der 7. bis 8. Stunde.

Der folgende Versuch zeigt, dafs die Immunserumwirkung auch bei subkutaner Infektion versagt, wenn durch einen Präzipitationsvorgang Komplement ausgeschaltet wird.

Versuch IV. 22. VII.

Maus 1. 0,5 Choleraextrakt + 0,1 Choleraimmunserum subkutan; nach 1 Stunde 0,2 Hühnercholera-Immunserum + $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Stirbt nach 27 Stunden. An der Infektionsstelle und im Herzblut massenhaft Bazillen.

Maus 2. 0,5 Choleraextrakt + 0,05 Choleraimmunserum subkutan; nach 1 Stunde 0,2 Hühnercholera-Immunserum + $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Stirbt nach 18 Stunden; an der Injektionsstelle und im Herzblut massen haft Bazillen.

Maus 3. 0,5 Choleraextrakt + 0,1 Choleraimmunserum.

Bleibt am Leben.

Maus 4. 0,6 normales Kaninchenserum subkutan; nach 1 Stunde 0,2 Hühnercholera-Immunserum + $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Bleibt am Leben.

Maus 5 (Kontrolle). 0,2 normales Kaninchenserum + $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Stirbt nach 18 Stunden. Im Herzblut und an der Infektionsstelle massenhaft Bazillen.

Von unseren Versuchen mit Choleravibrionen her wissen wir, dafs das fehlende Komplement durch die in der Bauchhöhle vorher angesammelten Leukozyten ersetzt wird, indem dieselben

je nach der Menge der angewendeten Immunserumdosis die Vibrionen mehr oder weniger rasch aufnehmen und in ihrem Innern zerstören. Da jedoch die Leukozyten gegenüber den Hühnercholerabazillen eine andere Rolle spielen, so war es von Interesse, die Leukozytenwirkung bei Komplementmangel zu untersuchen. Leukozyten wurden durch zweimalige in zehnstündigen Intervallen vorgenommene Einspritzung von Aleuronat oder frischer steriler Bouillon in der Bauchhöhle von Meerschweinchen angesammelt, sodafs die vor der Infektion [1]) entnommene Bauchhöhlenflüssigkeit dickeitrige Beschaffenheit aufwies. Das Übrige geht aus den Versuchsprotokollen hervor.

Versuch V. 5. XI.

Meerschweinchen 11. 2,5 Choleraextrakt + 0,05 Choleraimmunserum intraperitoneal; nach $^1/_4$ Stunde 0,5 Hühnercholera-Immunserum + 0,1 ccm Bouillonkultur.

Nach 1 Stunde: Ziemlich zahlreiche Bazillen, keine Zellen.
Nach 2 Stunden: Zahlreiche Bazillen, keine Zellen.
Nach 3 Stunden: Sehr zahlreiche Bazillen, wenige Zellen.
Nach 6 Stunden: Massenhaft Bazillen, wenige Zellen.
Nach 8 Stunden: Massenhaft Bazillen, wenige Zellen.
Nach 9 Stunden: Wimmelnd von Bazillen, wenige Zellen.

Stirbt nach weniger als 20 Stunden. In der Bauchhöhle massenhaft Hühnercholerabazillen, daneben vereinzelt dicke anaerobe Stäbchen. (Postmortale Verunreinigung vom Darme her.)

Meerschweinchen 12. Mit Aleuronat intraperitoneal vorbehandelt. 2,5 Choleraextrakt + 0,05 Choleraimmunserum intraperitoneal; nach $^1/_4$ Stunde 0,5 Immunserum + 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Leukozyten, vereinzelte Bazillen, keine Phagozytose.
Nach 2 Stunden: Eiter, vereinzelte Bazillen.
Nach 3 Stunden: Eiter, vereinzelte Bazillen.
Nach 6 Stunden: Eiter, vereinzelte Bazillen.
Nach 8 Stunden: Eiter, vereinzelte Bazillen.
Nach 24 Stunden: Eiter, keine Bazillen.
Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 13. 2,5 NaCl + 0,5 Hühnercholera-Immunserum; gleich darauf 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

---

1) Die Infektion wurde stets 14 Stunden nach der zweiten Aleuronatresp. Bouilloninjektion vorgenommen, so dafs 24 Stunden altes Eiter (Mikrophageneiter) in der Bauchhöhle war.

Nach 1 Stunde: Vereinzelte Bazillen, keine Leukozyten.

Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, Leukozyten vermehrt.

Nach 3 Stunden: Sehr wenige Bazillen, zahlreiche Leukozyten.

Nach 6 Stunden: Sehr wenige Bazillen, Eiter.

Nach 8 Stunden: Sehr wenige Bazillen, Eiter.

Nach 24 Stunden: Bazillen stark vermehrt, Eiter, Phagozytose einzelner Makrophagen, Mikrophagen ohne Phagozytose. (Tier vollkommen munter, keine schmerzhafte Peritonitis.)

Nach 48 Stunden: Noch immer massenhaft Bazillen, die sich zum Teil zu Fäden aneinanderlegen, zum Teil extrazellulär zerfallen.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 14. Mit Aleuronat intraperitoneal vorbehandelt. (Kontrolle.) 0,5 normales Kaninchenserum + 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 1 Stunde: Zahlreiche Leukozyten, vereinzelte Bazillen.

Nach 2 Stunden: Eiter, spärliche Bazillen.

Nach 3 Stunden: Eiter, beginnende Vermehrung der Bazillen.

Nach 6 Stunden: Weniger Leukozyten, massenhaft Bazillen.

Stirbt nach weniger als 20 Stunden. Im Bauchhöhlenexsudate massenhaft Bazillen.

Versuch VI. 31. X.

Meerschweinchen 15. Präzipitat von 8 ccm Choleraextrakt mit Choleraimmunserum ausgefällt und in zwei Teile geteilt. Die eine Hälfte des Präzipitates in 2 ccm NaCl aufgeschwemmt intraperitoneal; nach $^1/_4$ Stunde 0,5 Hühnercholera-Immunserum + 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach $1^1/_2$ Stunden: Zahlreiche Bazillen, wenige Zellen.

Nach 3 Stunden: Massenhaft Bazillen, wenige Zellen.

Nach 5 Stunden: Wimmelnd von Bazillen, wenige Zellen.

Nach $6^1/_2$ Stunden: Wimmelnd von Bazillen, wenige Zellen.

Stirbt nach 11 Stunden. In der Bauchhöhle massenhaft Bazillen.

Meerschweinchen 16. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt. Die andere Hälfte des Präzipitates in 2 ccm NaCl aufgeschwemmt intraperitoneal; nach $^1/_4$ Stunde 0,5 Hühnercholera-Immunserum + 0,1 Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach $1^1/_2$ Stunden: Spärliche Bazillen, Eiter, Phagozytose nicht sicher.

Nach 3 Stunden: Spärliche Bazillen, Eiter, Phagozytose nicht sicher.

Nach 5 Stunden: Spärliche Bazillen, Eiter, Phagozytose nicht sicher.

Nach $6^1/_2$ Stunden: Einzelne Bazillen, Eiter.

Nach 24 Stunden: Keine Bazillen, Eiter.

Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 17. 0,5 Hühnercholera-Immunserum + 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach $1^1/_2$ Stunden: Spärliche Bazillen, wenige Zellen.

Nach 3 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 5 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach $6^1/_2$ Stunden: Vereinzelte Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 24 Stunden: Vereinzelte Bazillen, Eiter. Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 18. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt. 0,5 normales Kaninchenserum + 0,1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal. (Kontrolle.)

Nach $1^1/_2$ Stunden: Spärliche Bazillen, Eiter.
Nach 3 Stunden: Ziemlich zahlreiche Bazillen, Eiter.
Nach 5 Stunden: Zahlreiche Bazillen, wenige Leukozyten.
Nach $6^1/_2$ Stunden: Wimmelnd von Bazillen, wenige Zellen.
Stirbt nach 13 Stunden mit massenhaft Bazillen im Bauchhöhlenexsudate.

Zunächst ist in diesen Versuchen auffällig die starke nachträgliche Vermehrung beim Immuntier (Meerschweinchen 13), welche jedoch schadlos vertragen wird, und worauf wir noch zurückkommen wollen. Sonst geht aus diesen Versuchen hervor, dafs das durch das komplementbindende System (Cholera-Extr., Chol.-Immunser.-Gemisch oder Präzipitat) unwirksam gewordene Komplement durch die anwesenden Leukozyten vollkommen ersetzt wird.

Es liegt nun die Frage vor, welche Bedeutung das Komplement für das Immunserum besitzt. Der Gedanke, dafs es eine bakterizide Funktion ausübt, ist sehr naheliegend. Wir glauben jedoch, dafs dies nicht der Fall ist. Bei der Milzbrandinfektion ist die Vermehrung der Bazillen (Auftreten tierischer Milzbrandbazillen) bei Komplementmangel in der Meerschweinchenbauchhöhle, wie Versuche von Bail gezeigt haben, eine so verfrühte, dafs dieselbe bereits in der 1. Stunde erfolgt, während beim analog infizierten Kontrolltiere erst nach 24 Stunden Kapselbazillen auftraten. Bei Milzbrand sind aber die bakteriziden Verhältnisse sehr genau untersucht, so dafs noch von keinem Autor im Meerschweinchenserum ein bakterizides Komplement für Milzbrandbazillen aufgefunden wurde, also dem Komplement eine andere als bakterizide Funktion zugeschrieben werden mufs. Wenn wir den Verlauf der Hühnercholerainfektion bei Immuntieren und Kontrolltieren vergleichen, so finden wir bei den von uns stets angewendeten Bakterienmengen bis zur 2. Stunde gar keine Differenz zwischen beiden. Erst nach der 2. Stunde setzt beim Kontrolltier die Vermehrung ein, die beim Immuntier ausbleibt. Beim komplementarmen Tiere setzt jedoch die Vermehrung sofort ein. Sonach scheint die Bedeutung des Komple-

mentes darin zu liegen, dafs durch dasselbe wenigstens für die ersten 2 Stunden die rapide Vermehrung der Bakterien hintangehalten wird.[1]) Abtöten kann das Meerschweinchenkomplement keinen einzigen Bazillus, wie man sich auch durch Versuche im Glase überzeugen kann, wo das Meerschweinchenserum einen ausgezeichneten Nährboden für die Hühnercholerabazillen darstellt. Würde im Tierkörper das Komplement eine bakterizide Wirkung ausüben, so müfste es doch gelingen, bei Injektion mit wenigen Keimen eine Abtötung derselben zu erzielen, was jedoch, wie schon frühere Autoren festgestellt haben, nicht der Fall ist. Ein lebender Keim stellt bei intraperitonealer Injektion die tödliche Dosis dar. Bei der Injektion mit einer sehr geringen Bakterienmenge bleibt die Bauchhöhle bis zur 12. — 20. Stunde keimfrei und erst dann treten in der eitrigen Bauchhöhle die ersten Keime auf, die sich trotz Anwesenheit der Leukozyten schrankenlos vermehren. Wohl der beste Beweis dafür, dafs der normale Meerschweinchenorganismus nicht über Mittel verfügt, in seinen Säften die Hühnercholerabazillen abzutöten, er zeigt aber auch, dafs die Leukozyten ihnen gegenüber machtlos sind. Es wäre wohl möglich, dafs das Meerschweinchenkomplement im Vereine mit dem Immunserum bakterizid wirkt. Diese Frage hat jedoch für die Erklärung der sofort einsetzenden Vermehrung bei Komplementmangel keine Bedeutung, weil ja, wie erwähnt, auch beim normalen Tier die Vermehrung in den ersten Stunden aufgehalten wird.

Haben die vorangehenden Versuche gezeigt, dafs das Hühnercholera-Immunserum auf die Mitwirkung des Organismus angewiesen ist, sei es in der Form des Komplementes oder der Leukozyten, wodurch es mit einem bakteriziden Immunserum anscheinend in Übereinstimmung steht, so war nun weiter zu untersuchen, welcher Art die wirksame Substanz im Immunserum sei. Ob es ein Immunkörper nach Art eines bakteriziden Ambozeptors sei, welcher sich mit den Bakterien verbindet und sie der auflösenden Fähigkeit der Körpersäfte zugänglich macht, oder

1) Wir müssen zugestehen, dafs diese Erklärung nicht vollkommen ausreicht.

eine Substanz, welche die Bakterien für die Aufnahme durch die Leukozyten geeignet macht im Sinne seiner bakteriotropen Substanz. Wir kennen bereits eine Reihe von Bakterien, welche mit dem betreffenden Immunserum keine Verbindung eingehen, welche sich, mit Immunserum behandelt, im Tierkörper wie normale Bakterien verhalten. Nur das mit eingespritzte Immunserum verleiht Schutz gegen diese Bakterien. Bei Ausführung derartiger Versuche müssen verschiedene Umstände in Betracht gezogen werden. Es ist nämlich möglich, daſs derartige Immunsera nur eine geringe Menge von Immunkörpern besitzen und demgemäſs die Behandlung der Bakterien entweder mit einer gröſseren Menge von Immunserum vorgenommen oder zur Behandlung wenige Bakterien verwendet werden dürfen. Dann kann es ferner sein, daſs durch intensive Behandlung der Bakterien, wie mehrmaliges Waschen, der vielleicht nur lose an die Bakterien gebundenen Immunkörper leicht losgesprengt wird. Die Beobachtung dieser Kautelen läſst sich leicht bei Hühnercholera durchführen, indem durch entsprechende Verdünnungen die Immunserumwirkung ausgeschaltet wird, die Bakterien aber noch in der tödlichen Menge vorhanden sind. Ein derartiger Versuch wurde zunächst an Mäusen durchgeführt, gegen welche das Immunserum in der Menge von 0,1 sicher schützte. Die Behandlung der Bakterien wurde so vorgenommen, daſs zu je 1 ccm Immunserum und 1 ccm normalen Kaninchenserum 1 Tropfen Bouillonkultur von Hühnercholerabazillen hinzugesetzt und 1 Stunde bei 37° und 2 Stunden bei Zimmertemperatur belassen wurden. Die Injektion wurde mit je $^1/_{10}$ Tropfen beider Flüssigkeiten vorgenommen. Durch diese Verdünnung wirkte einerseits das Immunserum nicht mehr, anderseits muſsten die Bakterien mit Sicherheit jede Beeinflussung erkennen lassen; die Injektion wurde demgemäſs allerdings mit einer sehr geringen Bakterienmenge ($^1/_{300}$ Tropfen ca. 3000 Keime) vorgenommen.

Versuch VII. 20. VII.

Maus 6. $^1/_{300}$ Tropfen mit 1 ccm Immunserum behandelter Bazillen. subkutan.

Stirbt nach 18 Stunden. An der Injektionsstelle und im Herzblut massenhaft Bazillen.

Maus 7 (sehr grofs). Infiziert wie Maus 6.

Stirbt nach 20 Stunden mit dem gleichen Befund wie Maus VI.

Maus 8. $^1/_{300}$ Tropfen mit 1 ccm normalem Kaninchenserum behandelter Bazillen subkutan.

Stirbt nach 16 Stunden. Massenhaft Bazillen im Blute und an der Infektionsstelle.

Maus 9. Infiziert wie Maus 8.

Stirbt nach 15 Stunden. Befund wie bei Maus 8.

Eine Bindung nach Art eines bakteriziden Ambozeptors, wie bei Cholera oder Typhus, ist hier nicht nachzuweisen[1]), denn es verhalten sich die mit Immunserum behandelten Bakterien genau so wie normale, obzwar die Bedingungen für eine Bindung die absolut günstigsten sind. Es war noch ein Punkt in Erwägung zu ziehen, um eventuell eine Bindung von bakteriotroper Substanz zu zeigen, indem man vorher Leukozyten ansammelt und hierauf die mit Immunserum behandelten Bakterien einspritzt. Die schon vorhandenen Phagozyten müfsten dann die behandelten Bakterien leicht bewältigen können.

Versuch VIII. 3. XI.

Bazillen (ca. 0,5 ccm Bouillonkultur entsprechend) zweimal mit je 1 ccm Immunserum 1 Stunde bei 37° behandelt und über Nacht auf Eis aufbewahrt, das überstehende Immunserum abgegossen, die Bakterien nicht gewaschen und in 1 ccm NaCl aufgeschwemmt. Derselben Behandlung wird die gleiche Menge mit normalem Kaninchenserum unterzogen.

Meerschweinchen 19. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt. Infiziert mit $^1/_{10}$ ccm der mit Immunserum behandelten Bazillen.

Nach 15 Minuten: Einzelne freie Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Nach 1 Stunde: Einzelne freie Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Nach 5 Stunden: Keine Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Nach 7 Stunden: Spärliche freie Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Stirbt nach 23 Stunden mit massenhaft Bazillen und spärlichen Zellen in der Bauchhöhle.

Meerschweinchen 20. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt. Infiziert mit $^1/_{10}$ ccm mit normalem Serum behandelter Bazillen.

Nach 15 Minuten: Spärliche Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

1) Dies bezieht sich nur auf eine für Tierkörper nachweisbare Bindung es liegt nicht im Interesse unserer Untersuchung, ob sich eine Bindung für die Reagenzglasverhältnisse nachweisen läfst (Bordetscher Versuch).

Nach 5 Stunden: Zahlreiche Bazillen, Eiter.

Nach 7 Stunden: Massenhaft Bazillen, weniger Leukozyten.

Stirbt nach 13—20 Stunden, mit massenhaft Bazillen und spärlichen Leukozyten in der Bauchhöhle.

Meerschweinchen 21. Infiziert mit $^1/_{10}$ ccm mit Immunserum behandelter Bazillen.

Nach 15 Minuten: Spärliche freie Bazillen, keine Zellen.

Nach 1 Stunde: Spärliche freie Bazillen, keine Zellen.

Nach 5 Stunden: Neben zahlreichen Leukozyten massenhaft Bazillen.

Nach 7 Stunden: Massenhaft Bazillen, wenige Zellen.

Stirbt nach 13 Stunden mit massenhaft Bazillen in dem Bauchhöhlenexsudate.

Versuch IX. 6. XI.

Bazillen ca. 0,5 ccm Bouillonkultur entsprechend zweimal 1 Stunde bei 37° mit 1 ccm Immunserum behandelt, hierauf über Nacht auf Eis aufbewahrt, abzentrifugiert, einmal gewaschen und in 1 ccm Na Cl aufgeschwemmt. Ebenso werden Bazillen mit normalem Kaninchenserum behandelt.

Meerschweinchen 22. Mit Boulllon intraperitoneal vorbehandelt. Intraperitoneal infiziert mit $^1/_{10}$ ccm mit Immunserum behandelter Bazillen.

Nach 15 Minuten: Spärliche freie Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Nach 1 Stunde: Spärliche freie Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Nach 2 Stunden: Keine freien und keine phagozytierten Bazillen, Eiter.

Nach 5 Stunden: Einzelne Bazillen, dicker Eiter.

Nach 7 Stunden: Spärliche Bazillen, dicker Eiter.

Nach 9 Stunden: Spärliche Bazillen, dicker Eiter.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Massenhaft Bazillen, wenige Zellen.

Meerschweinchen 23. Intraperitoneal mit Bouillon behandelt. Infiziert mit $^1/_{10}$ ccm mit normalem Serum behandelter Bazillen.

Nach 15 Minuten: Spärliche freie Bazillen, Eiter, keine Phagozytose.

Nach 1 Stunde: Desgl.

Nach 2 Stunden: Desgl.

Nach 5 Stunden: Desgl.

Nach 7 Stunden: Desgl.

Nach 9 Stunden: Beginnende Vermehrung der Bazillen, Eiter.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. In der Bauchhöhle massenhaft Bazillen, wenige Zellen.

Meerschweinchen 24. Intraperitoneal infiziert mit $^1/_{10}$ ccm mit Immunserum behandelter Bazillen.

Nach 15 Minuten: Spärliche Bazillen, keine Zellen.

Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, keine Zellen.

Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 5 Stunden: Vermehrung der Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 7 Stunden: Zahlreiche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 9 Stunden: Massenhaft Bazillen, wenige Zellen.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. In der Bauchhöhle massenhaft Bazillen.

Im Versuch VIII scheint es tatsächlich, als ob eine Beeinflussung der mit Immunserum behandelten Bazillen vorliegt, die sich einerseits in der Differenz des Bauchhöhlenbefundes, anderseits in der allerdings kurzen Lebensverlängerung zeigt (Meerschweinchen 19). Es lag jedoch sofort der Gedanke nahe, dafs die mit den Bakterien eingespritzten Immunserumreste bei Leukozytenanwesenheit diesen Effekt, der mit einer Bindung nichts zu tun hat, vortäuschen.

Der folgende Versuch zeigt auch, dafs diese Differenz schwindet, wenn das Immunserum durch einmaliges Waschen zum gröfsten Teile entfernt ist. Wir entnehmen auch diesen Versuchen, was in voller Übereinstimmung zu den Mäuseversuchen steht, dafs auch im normalen Meerschweinchen eine Bindung von Immunserumsubstanz an die Hühnercholerabazillen nicht nachzuweisen ist. Auf Grund dieser Versuche halten wir unszur Annahme berechtigt, dafs sich im Hühnercholera-Immunserum keine Bakteriotrope Substanz nachweisen lassen, die im Tierkörper irgendeine Wirkung ausüben. Das stimmt sowohl mit den eigenen Versuchen als auch mit denen früherer Autoren überein. Nur Huntemüller gibt an, dafs bei seinen Immunisierungsversuchen mit Hühnercholera ihm stets eine starke Phagozytose beim Immuntier hervortritt. Dieser Umstand, sowie die leichte Immunisierungsmöglichkeit mit abgetöteten Bakterien in seinen Versuchen, was den Angaben aller Autoren widerspricht, läfst uns annehmen, dafs derselbe mit einer sehr abgeschwächten Kultur gearbeitet hat, dies um so mehr, als seine Kultur erst in $^1/_{40}$ Öse subkutan Kaninchen tötete.

Haben nun die bisher angestellten Versuche gezeigt, dafs sich eine direkte Beeinflussung der Bakteriensubstanz weder nach Art eines bakteriziden Ambozeptors noch nach Art einer bakteriotropen Substanz experimentell im Tierkörper demonstrieren läfst, so mufste noch an die Möglichkeit gedacht werden, dafs das Immunserum auf die Zellen des Organismus von Einflufs ist. Wir wissen ja, dafs Metschnikoff die Hauptbedeutung des Immunserums darin sieht, dafs es die Zellen zu erhöhter Tätigkeit stimuliert. Wir mufsten also zunächst die Leukozyten in Betracht ziehen. Vor allem war zu untersuchen, ob sich die

Leukozyten von immunen Tieren anders verhalten als von normalen, ob Immunleukozyten, auf normale Tiere übertragen, denselben Schutz verleihen. Dafs Leukozyten, selbst von anderen Tierarten übertragen, sich aktiv verhalten, wissen wir aus den interessanten Versuchen von Pettersson.

Versuch X. 8. XI.

Meerschweinchen 25. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt; nach 16 Stunden 1,75 ccm Immunserum intraperitoneal.

3 Stunden später verblutet und die Leukozyten aus der Bauchhöhle entnommen, abzentrifugiert und einmal gewaschen.

Meerschweinchen 26. Mit Bouillon intraperitoneal behandelt; nach 16 Stunden 1,75 ccm normales Kaninchenserum intraperitoneal.

3 Stunden später getötet, Leukozyten entnommen und wie bei Meerschweinchen 25 behandelt.

Meerschweinchen 27. Sämtliche Leukozyten von Meerschweinchen 25 (Immunleukozyten) intraperitoneal; gleich darauf $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 15 Minuten: Zahlreiche Leukozyten ohne Phagozytose, wenige Bazillen.

Nach 1 Stunde: Desgl.

Nach 4 Stunden: Zahlreiche Leukozyten ohne Phagozytose, zahlreiche Bazillen.

Nach 6 Stunden: Spärliche Leukozyten, massenhaft Bazillen.

Stirbt nach weniger als 20 Stunden mit massenhaft Bazillen in der Bauchhöhle.

Meerschweinchen 28. Leukozyten von Meerschweinchen 26 intraperitoneal; gleich darauf $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 15 Minuten: Zahlreiche Leukozyten, spärliche Bazillen.

Nach 1 Stunde: Desgl.

Nach 4 Stunden: Zahlreiche Leukozyten, zahlreiche Bazillen.

Nach 6 Stunden: Spärliche Leukozyten, massenhaft Bazillen.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Massenhaft Bazillen im Exsudate.

Nachdem dieser Versuch ein negatives Resultat ergeben hat, indem die im Tiere behandelten Leukozyten sich als wirkungslos erwiesen hatten, zeigt ein weiterer Versuch die Immunserumwirkung auf Leukozyten im Reagenzglase. Da unser Immunserum vom Kaninchen stammt, so konnten, um eine Schädigung der Leukozyten zu verhüten, nur Kaninchenleukozyten verwendet werden. Dieselben stammten aus der Brusthöhle von einem Kaninchen, das intrapleural eine Aleuronateinspritzung erhalten hatte.

Versuch XI. 14. VII.

Die in großer Menge erhaltenen Leukozyten werden zweimal gewaschen, hierauf in 2 Teile geteilt. 1 Teil wird zweimal mit je 3 ccm Immunserum 1 Stunde bei 37° behandelt, hierauf einmal gewaschen. Die zweite Hälfte wird ebenso mit normalem Kaninchenserum behandelt.

Kaninchen 1. Die mit Immunserum behandelten Leukozyten + $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Im Infiltrate und im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bazillen.

Kaninchen 2. Die mit normalem Serum behandelten Bazillen + $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Befund wie Kaninchen I.

Kaninchen 3. 0,5 Immunserum subkutan; auf der anderen Seite 1 Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Nach 24 Stunden erbsengroßes Infiltrat, bleibt dauernd am Leben.

Kaninchen 4. 0,5 normales Kaninchenserum subkutan; auf der anderen Seite $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. An der Injektionsstelle und im Herzblute massenhaft Bazillen.

Auch dieser Versuch zeigt keine Beeinflussung der Leukozyten, obwohl dieselben mit der vielfach schützenden Immunserummenge behandelt waren. So läßt sich also im Experimente auch eine Beeinflussung der Leukozyten nicht demonstrieren, es ist damit allerdings in keiner Hinsicht der Beweis erbracht, daß das Immunserum im Tierkörper die Zellen nicht zu erhöhter Tätigkeit anspornt. Leider scheint diese Frage dem experimentellen Nachweis schwer zugänglich zu sein.

Die vorangehenden Experimente waren ausschließlich im Tierkörper angestellt worden, weil wir wissen, daß die meisten Immunitätsreaktionen sich nur im Glase nachweisen lassen, im Tierkörper aber nicht auftreten, so die Agglutination, Präzipitation und oft auch die Bakteriolyse. Es erschien uns noch von Wichtigkeit, unser Immunserum auf seinen bakteriolytischen Effekt im Reagenzglase zu untersuchen. Viele Immunsera, deren starke schützende Wirkung im Tierkörper hervortritt, wirken im Reagenzglase auf die Bakterien nicht abtötend ein. Speziell bei den Bakterien der hämorrhagischen Septikämie hat Voges mitgeteilt, daß seine Immuntiere keine Spur von Bakterizidie im Glase aufwiesen. Voges ging dabei so vor, daß er in frisches

Immunserum Bakterien einimpfte und dabei nach 24 Stunden eine Vermehrung derselben beobachtete. Viele bakterizide Versuche, die auch bei andern Immunseris auf dieselbe Weise ausgeführt wurden, haben in bezug auf Keimtötung ein negativ es Resultat ergeben. Es ist aber leicht möglich, dafs bei dieser Methode ein bakterizider Einflufs des Immunserums leicht übersehen werden konnte. Man braucht sich nur vorzustellen, dafs die Immunserumwirkung nicht bis zur Sterilisierung der Keime ausreicht, so kann es bei längerer Beobachtungsdauer leicht möglich sein, dafs das zur bakteriolytischen Wirkung notwendige Komplement eine Abschwächung erleidet und die Bakterien in dem nun inaktiven Immunserum wie in einer guten Nährlösung sich vermehren.

Wir stellten unsere Versuche genau nach Art eines bakteriziden Versuches mit Typhusbazillen oder Choleravibrionen an, indem wir das Immunserum $^1/_2$ Stunde auf 60° erhitzten, als Komplement aktives normales Serum und eine vierstündige Beobachtungsdauer wählten. Es sind jedoch noch einige Kautelen dabei zu beobachten, welche mit dem schlechten Wachstum der Hühnercholerabazillen[1]) auf gewöhnlichem Agar zusammenhängen. Die Keime wachsen erst dann vollständig zu Kolonien auf, wenn einem Agarröhrchen mindestens $^1/_{10}$ ccm Serum (Meerschweinchen-, Kaninchen- oder Rinderserum) zugesetzt wird. Dies bezieht sich zunächst nur für die Aussaatplatte, da ja in den übrigen Röhrchen hinlänglich Serum enthalten ist. Läfst man nämlich den zur Aussaat bestimmten Tropfen direkt in den verflüssigten, auf 40 bis 42° abgekühlten Agar fallen, so kommt es vor, dafs die Platte steril bleibt, obwohl massenhaft Keime darin enthalten sind. Dies verhindert man jedoch stets mit Sicherheit, wenn man dem Tropfen 0,1—0,5 ccm normales Serum beifügt, oder den Tropfen in die betreffende Serummenge fallen läfst, mit dem Agar überschichtet und zur Platte ausgiefst. Wir bedienten uns ferner, um sichere Resultate zu bekommen, nicht der Ösenaussaat, sondern der in unserem Institute üblichen Methode, wobei die gesamte nach 4 Stunden gewachsene Bakterienmenge

1) Es ist jedoch möglich, dafs dasselbe nur für unseren Stamm und unseren Agar gilt.

zur Platte ausgegossen wird, wodurch auch, wie schon oben erwähnt, dem Agar so viel Serum beigemengt wird, als die Keime zu ihrem Wachstum benötigen.

Tabelle I.

Immunserum ½ Std. 60°	Komplem. normal. Meerschw.-Serum	Einsaat	Nach 4 Stunden
0,001	0,5	1 Tropfen Bouillonkultur	∞ ∞ ∞
0,01	0,5		∞ ∞ ∞
0,1	0,5		Abnahme d. Keime
0,25	0,5		starke Abnahme d. Keime
0,25	—		∞ ∞ ∞ Kolonien fadenförmig
—	0,5		∞ ∞ ∞

Einsaat beträgt ∞ ∞ ∞.

Immunserum ½ Std. 60°	Komplem. normal. Meerschw.-Serum	Einsaat	Nach 4 Stunden
0,05	0,5	⅕ Tropfen Bouillonkultur.	ca. 20 000
0,1	0,5		ca. 20 000
0,25	0,5		ca. 20 000
0,25	—		∞ ∞ ∞ Kolonien fädchenförmig.
—	0,5		∞ ∞ ∞.

Einsaat beträgt ∞.

Es beweist dieser Versuch, dafs Immunserum, Normalserum-Mischung, einen, wenn auch schwachen, so doch deutlichen bakteriziden Einflufs zeigt, während sowohl das inaktive Immunserum, als auch das frische normale Serum allein jegliche bakterientötende Einwirkung vermissen lassen. Auffällig und regelmäfsig auftretend ist das eigentümliche Wachstum der Hühnercholerabazillen im inaktiven Immunserum. Die Keime wachsen, wie ein Aufstrich zeigt, nicht agglutiniert in Häufchen, sondern in aus 6 — 10 Bakterien bestehenden Fäden, und besonders charakteristisch ist das Aussehen der Kolonien, welche, im Gegensatz zu den sonst unregelmäfsig rundlichen Formen, bei schwacher Vergröfserung wie kurze Fädchen aussehen. Diese Kolonienform tritt, wie erwähnt, nur im inaktiven Immunserum auf.

Tabelle II.

Normales Kaninchenserum ½ Std. 60°	Komplem. normal. Meerschw.-Serum	Einsaat	Nach 4 Stunden
0,05	0,5	⅕ Tropfen Bouillonkult.	∞ ∞ ∞
0,1	0,5		∞ ∞ ∞
0,25	0,5		∞ ∞ ∞
0,25	—		∞ ∞ ∞
—	0,5		∞ ∞ ∞

Einsaat = ∞.

Normales Kaninchenserum ½ Std. 60°	Komplem. normal. Kaninchenserum	Einsaat	Nach 4 Stunden
0,25	0,5	⅒ Tropfen Bouillonkult.	∞ ∞ ∞
0,1	0,5		∞ ∞ ∞
0,05	0,5		∞ ∞ ∞
0,25	—		∞ ∞ ∞
—	0,5		∞ ∞ ∞

Einsaat ca. 100 000.

Diese Tabelle zeigt, dafs Mischungen von inaktivem und aktivem Kaninchen- oder Meerschweinchenserum absolut nicht bakteriolytisch wirken.

Tabelle III.

Immunserum aktiv	Einsaat	Nach 4 Stunden	Immunserum ½ Std. 60°	Komplem. (normales Kaninchenserum)	Einsaat	Nach 4 Stunden
0,75	⅒ Tropfen Bouillonkultur	ca. 3 000	0,25	0,5	⅒ Tropfen Bouillonkultur	ca. 15—20000
0,25		ca. 3 000	0,1	0,5		ca. 10 000
0,1		ca. 3 000	0,05	0,5		ca. 10 000
			0,25	—		∞ ∞ ∞ (Fädch.)
			—	0,5		∞ ∞ ∞

Einsaat ca. 100000.

Dieser Tabelle entnehmen wir, dafs das frische aktive Immunserum beide zur Abtötung der Bakterien notwendige Substanzen besitzt und ferner, dafs sich dasselbe Immunserum, welches durch Erwärmen inaktiviert wurde, durch normales frisches Kaninchenserum ergänzen läfst.

Wir haben noch einen weiteren Versuch angestellt, indem wir das Blut von Meerschweinchen 25, welches eine grofse Menge Immunserum erhalten hatte, auf seine bakterizide Wirksamkeit untersuchten, konnten aber keinen Effekt konstatieren.

Tabelle IV.

Serum von Meerschwein. 25 (frisch)	Einsaat	Nach 4 Stunden
1,0	$^1/_5$ Tropfen Bouillonkultur	∞ ∞ ∞
0,5		∞ ∞ ∞
0,25		∞ ∞ ∞
0,1		∞ ∞ ∞
0,05		∞ ∞ ∞

Einsaat = ∞.

Nach dem Ausfall dieser Versuche müssen wir zu dem Schlusse gelangen, dafs das Hühnercholeraimmunserum spezifische bakterizide Fähigkeiten aufweist, die sich der Qualität nach von einem bakteriziden Typhus- oder Choleraimmunserum nicht unterscheiden. Es entsteht nun die sehr wichtige Frage, ob die Wirkung des Immunserums im Tierkörper auf diese bakteriziden Eigenschaften zurückzuführen ist, ob die Immunserumwirkung durch Bakterizidie ihre volle Erklärung findet, oder ob die Reagenzglasbakteriolyse etwa die Bedeutung hat, die z. B. der Agglutination zukommt, die, wie bekannt, nie im Körper auftritt und für die Immunität belanglos ist. Wir möchten zunächst erwähnen, dafs alle Beobachtungen im aktiv und passiv immunen Tiere direkt gegen eine Bakterizidie im Tierkörper sprechen. Wie stets erwähnt und auch von mehreren Seiten bestätigt, halten sich im aktiv sowie passiv immunen Tier noch lange Bazillen, die lebend und vollvirulent sind. Ja es geht so weit, dafs sich die Bakterien im immunen Tier unter Umständen stark vermehren. Wir haben diese als nachträgliche Vermehrung bezeichnete Erscheinung schon früher erwähnt und haben unter diesen Versuchen ebenfalls ein Beispiel davon. (Meerschweinchen 13.) Diese Tiere, deren Bauchhöhle voll von Bakterien ist, sind voll-

kommen munter[1]), gesund und bleiben dauernd am Leben. Die Bakterien daselbst werden nicht aufgelöst, werden nur von einzelnen Makrophagen gefressen, die eigentlichen Phagozyten, die Mikrophagen, lassen sie unberührt, sondern sie zerfallen in der Bauchhöhle nach Tagen wie in einem von Nahrmitteln erschöpften Nährboden. Trotzdem sind diese Bakterien vollvirulent, wenn sie auf ein normales Tier übertragen werden. Selbst bei Immuntieren, die nicht die nachträgliche Vermehrung zeigen, finden sich nach längerer Zeit in der Bauchhöhle virulente Keime, die nur für das Immuntier schadlos sind, ein anderes Tier aber prompt töten. Derartige Erscheinungen lassen sich mit Bakterizidie im Körper nicht vereinbaren. Ein Keim, der nicht abgetötet ist, kann sich vermehren. Bei Cholera oder Typhus werden wenige Keime, welche der Bakteriolyse entgehen, nicht gefährlich, denn die Virulenz derselben ist verhältnismäfsig gering. Bei Hühnercholera aber liegen die Verhältnisse ganz anders. Eine bakterizide Immunität würde hier nie ausreichen, um dauernden Schutz zu gewähren, weil die wenigen Keime, die der Abtötung entgehen, das Tier nachträglich töten müfsten. Ein schönes Beispiel von dem Versagen der bakteriziden Immunserumwirkung haben wir bei der Schweinepestinfektion der Meerschweinchen. Die Schweinepestbakterien werden in der Bauchhöhle bei passiv immunen Tieren in Granula umgewandelt und die betreffenden Tiere überleben regelmäfsig die Kontrolltiere. Ebenso regelmäfsig gehen aber erstere nach einigen Tagen an der bakteriellen Infektion zugrunde. Und das verursachen die wenigen der Bakteriolyse entgangenen Keime, welche in geringer Zahl doch die tödliche Anfangsdosis darstellen. Wie viel eher müfste diese Erscheinung stets bei Hühnercholera auftreten, auch wenn die geringe Reagenzglasbakteriolyse, die selbst bei grofsen Mengen von Immunserum nie eine Sterilisierung, sondern nur eine Keimverminderung zustande bringt, im Tierkörper eine Bedeutung

1) Normal infizierte Tiere zeigen schon frühzeitig, wenn die Vermehrung der Bakterien in der Bauchhöhle beginnt, wo also verhältnismäfsig wenige Keime daselbst sich befinden, schmerzhafte Peritonitis, die jedoch beim Immuntier mit nachträglicher Vermehrung vollkommen fehlt.

hätte. Tatsächlich gelingt es aber absolut sicher, Tiere gegen die Hühnercholerainfektion dauernd zu schützen.

Ist die bakteriolytische Wirkung des Hühnercholera-Immunserums die einzige Ursache der Schutzwirkung, so mufsten andere Sera, welche die Hühnercholerabazillen nach demselben Mechanismus abtöten, Schutz verleihen. Nachdem, wie die obigen Versuche zeigten, normales Kaninchen- und Meerschweinchenserum wirkungslos sind, dachten wir an das Rinderserum, welches wegen seines hohen Immunkörpergehaltes auf viele Bakterien abtötend wirkt. Es wurde also das Rinderserum auf seine bakteriziden Eigenschaften hin untersucht.

Tabelle V.

Rinderserum I frisch	Einsaat	Nach 4 Stunden	Rinderserum II frisch	Einsaat	Nach 4 Stunden
1,0	1/5 Tropfen Bouillonkultur	ca. 8 000	0,5	1/5 Tropfen Bouillonkultur	ca. 100 000
0,5		ca. 5 000	0,25		ca 100 000
0,25		ca. 3 000	0,1		ca. 100 000
0,1		ca. 3 000	0,01		∞

Einsaat = ∞.

Tabelle VI.

Immunserum 1/2 Std. 60°	Komplem. (Kaninchenserum)	Einsaat	Nach 4 Stunden	Rinderserum III frisch	Einsaat	Nach 4 Stunden
0,25	0,5	1/10 Tropfen Bouillonkultur.	ca. 25 000	0,5	1/10 Tropfen Bouillonkultur	3 000
0,1	0,5		ca. 15 000	0,25		3 000
0,01	0,5		∞ ∞	0,1		5 000
0,25	—		∞ ∞ ∞ Fadchenkolonie	0,01		∞
—	0,5		∞ ∞ ∞			

Einsaat mehr als 100 000.

Tabelle VII.

Rinderserum IV frisch	Einsaat	Nach 4 Stunden	Rinderserum IV 1/2 Std. 60°	Einsaat	Nach 4 Stunden
0,5	1/10 Tropfen Bouillonkultur	ca. 40 000	0,5	1/10 Tropfen Bouillonkultur	∞ ∞ ∞
0,25		ca. 25 000	0,25		∞ ∞ ∞
0,1		ca. 20 000	0,1		∞ ∞ ∞

Einsaat mehr als 100 000.

Tabelle VIII.

Rinderserum V frisch	Einsaat	Knapp vor dem Giefsen zugesetzt. Inaktives Rinderserum	Nach 4 Stunden	Rinderserum V 1/2 Std. 60°	Einsaat	Knapp vor dem Giefsen zugesetzt. Inaktives Rinderserum	Nach 4 Stunden
0,5	1/10 Tropfen Bouillonklt.	—	ca. 8 000	0,5	1/10 Tropfen Bouillonklt.	—	∞ ∞ ∞
0,25		0,25	ca. 5 000	0,25		0,25	∞ ∞ ∞
0,1		0,4	ca. 30 000	0,1		0,4	∞ ∞ ∞
0,01		0,5	∞	0,01		0,5	∞ ∞ ∞

Einsaat mehr als 100 000.

Das Rinderserum zeigt, wie diese Versuche lehren, ausgesprochene Bakterizidie gegenüber den Hühnercholerabakterien. Dieselbe ist bei den verschiedenen Seris verschieden stark ausgesprochen, allerdings selten findet man auch ein Serum, welches diese Eigenschaft überhaupt nicht aufweist. Wenn wir die Bakteriolyse des Rinderserums mit dem eines schützenden Immunserums vergleichen, so sehen wir, dafs erstere unter Umständen viel stärker ausgesprochen sein kann. (Tab. VI) Diese Versuche zeigen weiters, dafs die Wirksamkeit des Rinderserums aufhört, wenn man es durch Inaktivierung seines Komplements beraubt (Tab. VIII, IX), und schliefslich haben wir in Tab. VIII einen Versuch mitgeteilt, wie er, um alle Röhrchen gleichen Wachstumsbedingungen auszusetzen, anzustellen ist.

Um uns zu überzeugen, ob das Rinderserum seine Bakterizidie auch im Tierkörper ausübt, wählten wir ein solches, welches

möglichst wirksam war, und zwar Rinderserum III in aktivem Zustand, welches das gleichzeitig untersuchte schützende Immunserum an Wirksamkeit übertraf.

Versuch XII. 27. XI.

Meerschweinchen 29. 0,5 Rinderserum: gleich darauf $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur intraperitoneal (die zur Einsaat in Tabelle VI verwendeten Bakterien).

Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, keine Zellen.

Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Zellen,

Nach 5 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 6 Stunden: Vermehrung der Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 7 Stunden: Zahlreiche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Stirbt nach 20 Stunden mit massenhaft Bazillen und wenigen Zellen im Bauchhöhlenexsudate.

Meerschweinchen 30. $^1/_{10}$ Tropfen Bouillonkultur intraperitoneal (Kontrolle).

Nach 1 Stunde: Spärliche Bazillen, keine Zellen.

Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, wenige Zellen.

Nach 5 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 6 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 7 Stunden: Ziemlich zahlreiche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Stirbt nach 20 Stunden mit massenhaft Bazillen und wenigen Zellen im Bauchhöhlenexsudat.

Wir sehen also, dafs das Rinderserum, trotz seiner bakteriolytischen Fähigkeiten, keine Spur von Schutzwirkung verleiht. Wir untersuchten weiter, ob vielleicht die Anwesenheit von Leukozyten in der Bauchhöhle auf das Rinderserum begünstigend wirkt.

Versuch XIII. 27. XI.

Meerschweinchen 31. Mit Bouillon intraperitoneal vorbehandelt. 0,5 Rinderserum III intraperitoneal; gleich darauf $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 2 Stunden: Eiter, sehr spärliche Bazillen.

Nach 5 Stunden: Eiter, Vermehrung der Bazillen.

Nach 8 Stunden: Zahlreiche Leukozyten, massenhaft Bazillen.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden mit massenhaft Bazillen in der Bauchhöhle.

Meerschweinchen 32 Mit Bouillon vorbehandelt; $^1/_{10}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal. (Kontrolle.)

Nach 2 Stunden: Eiter, wenige Bazillen.

Nach 5 Stunden: Eiter, Vermehrung der Bazillen

Nach 8 Stunden: Zahlreiche Zellen, zahlreiche Bazillen.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden. Mit massenhaft Bazillen im Bauchhöhlenexsudate.

Wir sehen, dafs auch unter diesen Bedingungen das bakterizide Rinderserum machtlos ist, diese Fähigkeit auf den Tierkörper zu übertragen und die Infektion zu verhüten. Wir wissen aber sehr wohl, dafs ein normales Serum auch im Tierkörper seine bakteriolytischen Eigenschaften geltend machen kann bei jenen Bakterien, welche eben im Körper aufgelöst werden können. So hat schon Pfeiffer gezeigt, dafs das normale menschliche Blutserum in erheblichen Verdünnungen in der Bauchhöhle von Meerschweinchen bei Choleravibrionen das Pfeiffersche Phänomen hervorruft. Wir können dasselbe auch beim Rinderserum zeigen, welches auch die Choleravibrionen in erheblichem Mafse abtötet.

Versuch XIV. 6. XII.

Meerschweinchen 33. 0,5 Rinderserum + 1 Öse Choleravibrion intraperitoneal. 210 g.

Nach 10 Minuten: Massenhaft Granula, wenige unbewegliche Vibrionen.
Nach 20 Minuten: Spärliche Granula, keine Vibrionen.
Nach 1 Stunde: Keine Granula, keine Vibrionen.
Nach 4 Stunden: Zahlreiche Leukozyten.
Bleibt dauernd am Leben.

Meerschweinchen 34. 0,5 NaCl + 1 Öse Choleravibrion. (Kontrolle.) 255 g.

Nach 10 Minuten: Massenhaft bewegliche Vibrionen.
Nach 20 Minuten: Desgl.
Nach 1 Stunde: Desgl.
Nach 4 Stunden: Wimmelnd von Vibrionen.
Stirbt nach weniger als 18 Stunden mit massenhaft Vibrionen und einzelnen Leukozyten in der Bauchhöhle, Auflagerungen auf Leber und Darm sind nicht vorhanden.

Es löst also das Rinderserum glatt die 10fach tödliche Dosis Choleravibrionen auf und schützt das Tier vor der tödlichen Infektion. Die bakterizide Wirkung im Glase tritt also bei Cholera prompt auch im Tierkörper auf und unterscheidet sich der Qualität nach durch nichts von einem spezifischen Choleraimmunserum. Die Differenz aber zwischen Reagenzglas und Tierkörper bei Hühnercholera tritt klar hervor und liefert einen weiteren Beweis, dafs die Bakterizidie im Tierkörper nicht auftritt und mit der Schutzwirkung nichts zu tun haben kann.

Wir können noch einen unsere Ansicht stützenden Beweis nach der Richtung hin erbringen. Wir haben schon früher die Beobachtung gemacht, dafs das Hühnercholera-Immunserum seine Schutzwirkung verlor, wenn man längere Zeit nach der letzten Injektion Blut entnahm. Es ist von Interesse, dafs Hertel in seiner Arbeit über Hühnercholera, die uns leider erst nach der Publikation unserer ersten Arbeiten bekannt wurde, dasselbe beobachtet hat. Hertel führt dies allerdings darauf zurück, dafs das betreffende Tier während der Immunisierung erkrankte. Wir können dem nicht beistimmen, denn wir haben des öfteren marantische Tiere sterbend[1]) entblutet, und haben, wenn die betreffenden Tiere noch in Reaktion standen, keine Abnahme des Schutzwertes bemerkt. Da jedoch die Erscheinung des schnellen Schwindens der Schutzwirkung bei der bakteriziden Immunität nicht der Fall ist, so verfügen wir vielleicht dadurch über ein Mittel, die Bakterizidie und Schutzwirkung unseres Immunserums zu trennen, indem es nämlich auf diese Weise möglich ist, dafs das Immunserum, trotz Erhaltenseins seiner bakteriziden Eigenschaften, keinen Schutz verleiht. Wir entnahmen zu dem Zwecke unserem Kaninchen 10 Wochen nach der letzten Aggressineinspritzung Blut und haben nun seine Wirkung nach beiden Richtungen hin untersucht.

Versuch XV. 21. XI.

Meerschweinchen 35. 1 ccm Immunserum subkutan; gleich darauf $^1/_{20}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 2 Stunden: Wenige Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 3 Stunden: Desgl.

Nach 4 Stunden: Ziemlich zahlreiche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bazillen und spärlichen Zellen im Bauchhöhlenexsudate.

Meerschweinchen 36. 1 ccm Immunserum intraperitoneal; gleich darauf $^1/_{20}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal.

Nach 2 Stunden: Spärliche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 3 Stunden: Desgl.

Nach 4 Stunden: Ziemlich zahlreiche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bazillen und spärlichen Zellen im Exsudate.

1) Es herrschte z. Z., als wir unsere ersten Untersuchungen anstellten, starke Seuche unter unseren Tieren.

Meerschweinchen 37. 1 ccm norm. Serum subkutan, gleich darauf $^1/_{20}$ ccm Bouillonkultur intraperitoneal. (Kontrolle.)

Nach 2 Stunden: Wenige Bazillen, zahlreiche Zellen.

Nach 3 Stunden: Beginnende Vermehrung der Bazillen, zahlr. Zellen.

Nach 4 Stunden: Zahlreiche Bazillen, zahlreiche Zellen.

Stirbt nach 18 Stunden mit massenhaft Bazillen.

Tabelle IX.

Immunserum $^1/_2$ Std. 60°	Komplem. normal. Kaninchenserum	Einsaat	Nach 4 Stunden
0,25	0,5	$^1/_5$ Tropfen Bouillonkultur.	ca. 3 000
0,1	0,5		ca. 25 000
0,05	0,5		ca. 20 000
0,25	—		∞ ∞ ∞ Fädchenkolonien.
—	0,5		∞ ∞ ∞

Einsaat = ∞.

Dieser Versuch bestätigt unsere Erwartungen, indem eine Schutzwirkung selbst in der Dosis von 1 ccm nicht zu konstatieren, die bakteriolytische Wirkung hingegen vollkommen erhalten ist. Dies beweist klar, dafs Reagenzglasbakteriolyse und Schutzwirkung beim Hühnercholeraimmunserum zwei ganz verschiedene Dinge sind.

Vieles spricht angesichts dieser durch Versuchstatsachen gestützten Beweise dafür, dafs die Glasbakterizidie bei Hühnercholera ganz bedeutungslos ist für die Schutzwirkung, dafs sie etwa die Rolle spielt wie die Agglutination, die im Tierkörper gar nicht auftritt, und deren Bedeutungslosigkeit für die Immunität fast allgemein angenommen wird. Als Reaktion gegen die eingeführte Bakteriensubstanz bildet der Organismus Produkte, die wiederum gegen die Bakteriensubstanz, auch gegen die gelöste, gerichtet sind, so die Agglutinine, Bakteriolysine und Präzipitine. Es läfst sich nicht leugnen, dafs auch bei der Aggressinimmunisierung geringe Mengen von Bakterienleibessubstanz eingeführt werden[1]), und das Immunserum enthält dann jene Stoffe, welche auf dieselbe wirken, indem sie eine Verbindung mit der-

1) Was besonders bei unserem Immunserum der Fall war, indem das betreffende Kaninchen, um in Reaktion zu bleiben, öfters Injektionen von 20 ccm Aggressin bekommen hatte.

selben eingehen. Es ist sicher nicht zu verkennen, dafs dort, wo eine Auflösung der Bakterien im Tierkörper möglich ist, daraus die Schutzwirkung resultieren kann, denn das ist die eleganteste Art, wodurch sich der Organismus der eingeführten Mikroorganismen entledigt. Wenn die Bakteriolyse im Tierkörper auftreten kann, so ist das so intensiv der Fall, wie man es nie in der Eprouvette sieht. Dies gilt jedoch nur für wenige Bakterienarten und für wenige Orte im Organismus. Bakterien, deren Leibessubstanz sehr labil ist, oder deren Existenzbedingungen im Körper mehr oder weniger ungünstige sind, werden davon betroffen. So in erster Linie die Vibrionen. Ungünstiger liegen schon die Verhältnisse bei Typhus- oder Kolibakterien. Jene Mikroorganismen aber, welche dem lebenden Körper angepafst sind, welche daselbst ihre günstigsten Existenzbedingungen finden, wie die echten Parasiten, bleiben im Organismus unversehrt. Das schönste Beispiel hierfür bietet die Milzbrandinfektion des Kaninchens. Verschlechtert man aber die Existenzbedingungen derartiger Keime, d. h. bringt man sie aus dem Tierkörper heraus in künstliche Nährmedien, dann können Körpersäfte und Immunsera jene Eigenschaften ausüben, die gegen die Bakteriensubstanz, die schon durch das Verweilen im künstlichen Nährboden in unnatürliche Verhältnisse gebracht und geschwächt ist, gerichtet sind, wie die Agglutination[1]) und Bakteriolyse. Die Schutzwirkung

1) Es war auch zu erwarten, dafs unser Immunserum eine zweite gegen die Bakteriensubstanz gerichtete Eigenschaft, nämlich die Agglutination, aufwies, was aber durchaus nicht bei allen nach unserer Methode hergestellten Immunsera der Fall ist.

Agglutinationsversuch.

Immunserumverdünnung	Beobachtungszeit bei 50° nach 2 Std.	Zimmertemperatur nach 24 Stunden	Beobachtungszeit bei 37° nach 2 Std.	Zimmertemperatur nach 24 Stunden
1 : 10	Starke Flockenbildung	Bodensatz, überstehend. Flüssigkeit klar	0	Geringer Bodensatz, übersteh. Flüssigk. trübe.
1 : 50	0	0	0	0
1 : 200	0	0	0	0
1 : 500	0	0	0	0
Kontrolle mit norm. Kaninchenserum				
1 : 10	0	0	0	0

im Körper mufs aber in einem anderen Moment gesucht werden als in einer blofsen Auflösung der Keime, wovon man auch nichts sieht. Was man sieht, ist, dafs die Vermehrung der Bakterien, wenigstens die schrankenlose, gehemmt ist.

Wie jedoch aus unseren Versuchen hervorgeht, bedarf das Immunserum der Mitwirkung des Organismus durch eine Substanz, die man als Komplement bezeichnet. Schaltet man das Komplement aus, so ist das Immunserum vollkommen machtlos, der Organismus ist für die Infektion disponierter als der normale. Einen vollen Ersatz aber findet das Komplement, das in den Säften vorhanden ist, in den Leukozyten, und es ist anzunehmen, dafs ein enger Zusammenhang zwischen beiden besteht, auch wenn bis jetzt in den Leukozyten der Nachweis von thermolabilen komplementären Stoffen nicht gelungen ist. Schon in den früheren Versuchen bei Cholera ist die Analogie zwischen beiden eine grofse. Die mit Immunserum beladenen Vibrionen werden bei Anwesenheit von Komplement in der Bauchhöhle aufgelöst. Bei Mangel an Komplement und Anwesenheit von Leukozyten werden sie im Innern der Leukozyten aufgelöst. Dazwischen liegt der Akt der Phagozytose. Dieser Parallelismus läfst sich

---

Die Agglutinationsfähigkeit dieses Serums ist eine sehr geringe, und kann, wenn man die Agglutination bei 37° anstellt, leicht übersehen werden. Wir müssen bei dieser Gelegenheit noch einmal darauf hinweisen, dafs sich die Agglutinationsprüfung bei 50° gerade für jene Bakterien eignet, welche eine längere Beobachtungszeit erfordern, um eine Vermehrung derselben zu verhüten. Die Brauchbarkeit dieser Methode hat sich, wie Kutscher hervorhebt, besonders bei der Meningokokkenagglutination bewährt, indem ein Stamm, der eine sichere Genickstarre hervorgerufen hatte, nur durch die Agglutination bei 50° identifiziert werden konnte, so dafs Kutscher rät, bei Meningokokken, um deutliche Resultate zu bekommen, nur die Agglutination bei 50° anzuwenden. Die Agglutination beim Temperaturoptimum ist nicht nur bei den vom Verfasser festgestellten, sondern inzwischen bei vielen anderen Bakterien und von zahlreichen Autoren bestätigt worden Nur Kafka macht eine Ausnahme, indem derselbe angibt, dafs, von einzelnen Fällen abgesehen, bei Typhusbazillen — also gerade jener Bakterienart, die von den meisten Autoren zur Nachprüfung verwendet wurde — die Agglutination bei 50° jener bei 37° qualitativ und quantitativ nachsteht. Diese mit den Beobachtungen aller Autoren und den eigenen im strikten Gegensatze stehenden Ausführungen vermag sich Verfasser nicht zu erklären.

auch bei Hühnercholera zeigen. Die Auflösung der Hühnercholerabazillen erfolgt nicht in der Bauchhöhle bei Vorhandensein von Komplement und auch nicht bei Leukozytenanwesenheit durch dieselben, denn es fehlt die Phagozytose. Die sofort einsetzende Vermehrung der Hühnercholerabazillen wird durch das Komplement verhindert, dasselbe bewirken die Leukozyten bei Komplementmangel. Es geht allerdings aus unseren Versuchen nicht hervor, worin der Zusammenhang zwischen Leukozyten und Komplement besteht. Da das Komplement in unserem Falle eine bakterizide Bedeutung nicht besitzt, so scheint es uns von besonderer Wichtigkeit zu sein, dafs hier eine neue Funktion der Körperflüssigkeiten vorliegt, welche mit der Bakterizidie nichts zu tun hat und doch für die Verteidigung des Tieres so aufserordentlich wichtig und unentbehrlich ist. Ist einerseits die Mithilfe des Organismus bedingungslose Voraussetzung für die Schutzwirkung des Immunserums, so kann sich anderseits der Organismus allein nie der Infektion mit Parasiten erwehren. Die Leukozyten, die bei den Halbparasiten oft von ganz aufserordentlicher Wirksamkeit sind, versagen bei den echten Parasiten vollkommen. Nur durch das Zusammenwirken von Organismus und Immunserum kann ein erfolgreicher Schutz resultieren und dieser bezieht sich vor allem darauf, dafs die Bakterien behindert sind, ihren Parasitismus zu entfalten, sich auf Kosten des lebenden Gewebes zu vermehren, wodurch sie ihrer Aggressivität beraubt sind. Die Bakteriensubstanz aber bleibt unberührt.

Zusammenfassung:

1. Entfernt man durch Erzeugung einer Präzipitation oder durch das Präzipitat das Komplement aus der Bauchhöhle von Meerschweinchen, so ist das Hühnercholera-Immunserum wirkungslos, und der Verlauf der Infektion ändert sich bei Komplementmangel derart, dafs derselbe trotz Anwesenheit von Immunserum viel rapider wird als beim normalen Tiere.
2. Das fehlende Komplement kann durch anwesende Leukozyten vollkommen ersetzt werden.

3. Es gelingt nicht, eine Verbindung von Immunserumsubstanz mit den Hühnercholerabazillen im Tierkörper nachzuweisen.
4. Eine Einwirkung des Immunserums auf die Leukozyten läfst sich ebenfalls im Experimente nicht demonstrieren.
5. Das Hühnercholeraimmunserum entfaltet in der Eprouvette spezifische bakterizide Eigenschaften. Dieselben haben jedoch mit der Schutzwirkung nichts zu tun, weil einerseits bakterizides Rinderserum keine Immunität verleiht, anderseits Immunsera im Reagenzglase bakterizide Fähigkeit besitzen und doch im Tierkörper wirkungslos sind. Aufserdem spricht der ganze Verlauf gegen bakterizide Immunität.
6. Da demnach das Komplement, welches für den Schutzeffekt so wichtig ist, eine bakterizide Funktion im Körper nicht ausübt, so mufs hier eine andere Funktion derselben vorliegen.

Literatur.

Bail, Wiener klinische Wochenschrift, 1906.

Hertel, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, 1904.

Huntemüller, Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 42, Heft 2.

Kafka, Zentalblatt f. Bakteriologie, Bd. 40, S. 247.

Kutscher, Deutsche med. Wochenschr., Nr. 48, 1906.

Metschnikoff, Immunität bei Infektionskrankheiten. Beilage z. Abt. I, Bd. 38.

Neufeld, Referat aus der freien Vereinigung für Mikrobiologie. Zentralblatt f. Bakt., 1906.

Pfeiffer, Zit. bei Friedberger: Bakterizide Sera. Handbuch von Wassermann u. Kolle.

Petersson, Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 40, 1906.

Voges, Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, Bd. 23.

Wright, Lancet, 1904.

Weil, Archiv f. Hygiene, Bd. LII.

—, Archiv f. Hygiene, Bd. LIV.

—, Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 43, Heft 2.

Über die Bestimmung des Sauerstoffes im Wasser nebst einigen Beobachtungen über Sauerstoffzehrung.

Von

Privatdozent Dr. S. Korschun.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Prof. Max Gruber.)

In jüngster Zeit hat man beim Studium der Frage der Abwässerbeseitigung und der sog. Selbstreinigung der Flüsse dem Sauerstoffgehalte des Wassers und seinen Änderungen mit Recht erhöhte Aufmerksamkeit zugewendet.

Wenn wir annehmen, dafs wir ein Wasser haben, in welchem gar keine Prozesse vor sich gehen, die mit Verbrauch oder umgekehrt mit Bildung freien Sauerstoffes verknüpft sind, so kommt bei Zusammenbringen von Wasser und Luft allmählich Sättigung des Wassers mit den Gasen der Luft zustande, wobei die Menge der im Wasser gelösten Gase von der Wassertemperatur und vom Partialdrucke, unter dem die einzelnen Gase stehen, abhängt. Beim Schütteln des Wassers mit Luft tritt die Sättigung mit Gasen sehr rasch ein. In diesem Sinne wirkt das schnelle Strömen eines Flusses, Wasserfälle, starker Wellenschlag usw. Das Wasser stellt aber ein Medium dar, in welchem mehr oder weniger energisch verschiedene Prozesse vor sich gehen, die mit Sauerstoffverbrauch verbunden sind. Dazu gehören die rein chemischen Prozesse, z. B. die Verwandlung der Eisenoxydulsalze in Eisenoxydhydrat, des Schwefelwasserstoffes in Schwefel und Wasser usw. Eine noch gröfsere

Bedeutung für die Verarmung des Wassers an freiem Sauerstoff haben biologische Prozesse, die mit der Lebenstätigkeit der im Wasser lebenden niederen Organismen verknüpft sind, insbesondere mit der der Bakterien. Im Vergleich mit den erwähnten Faktoren hat der Sauerstoffverbrauch durch Fische nur eine nebensächliche Bedeutung. Anderseits geben die grünen Wasserpflanzen, unter ihnen nach den Beobachtungen von Knauthe[1]) inbesondere mikroskopische, unter Einwirkung des Lichtes an das Wasser Sauerstoff ab, den sie aus der Kohlensäure abspalten. Hierbei ist die Entstehung des Sauerstoffes so energisch, dafs bei hellem Sonnenlicht ein Maximum (24 ccm von 0° und 760 mm in 1 Liter) von freiem Sauerstoff im Wasser erreicht wird, also Übersättigung des Wassers mit Sauerstoff, die niemals eintreten könnte, wenn das Wasser seinen Sauerstoff nur aus atmosphärischer Luft beziehen würde.

Die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen ist also der wichtigste Faktor für den Gehalt des Wassers an freiem Sauerstoff. Im Dunkeln wird er hauptsächlich von der Menge der im Wasser enthaltenden, Sauerstoff zehrenden Mikroben und der Energie ihrer Verzehrung abhängen. Es ist klar, dafs die Mikroorganismen sich desto schneller vermehren und desto mehr freien Sauerstoff in der gegebenen Zeit verbrauchen, je bessere Lebensbedingungen sie im Wasser finden. Mit anderen Worten: es mufs eine bestimmte Proportionalität existieren zwischen dem Gehalt des Wassers an organischen Substanzen, der Menge der Mikroorganismen und der Gröfse der Sauerstoffzehrung im Wasser. Diese Betrachtungen, welche Spitta[2]) experimentell bestätigt hat, veranlafsten ihn, die Bestimmung der Sauerstoffzehrung im Wasser zu empfehlen, um über den Reichtum des Wassers an organischen Abfällen ein Urteil zu fällen. Die gewöhnlichen chemischen Wasseruntersuchungsmethoden geben bekanntlich eine ganz richtige Vorstellung von der Gesamtmenge der organischen Substanzen im Wasser, da die Reaktion der einzelnen organischen Substanzen mit Permanganat höchst verschieden ist. Vielleicht ist in dieser Hinsicht die Bestimmung der Menge der Bakterienkeime im Wasser wertvoller. Aber auch diese Methode hat ihre Schatten-

seiten, die erstens darin bestehen, dafs nur eine kleine Menge Wassers untersucht werden kann, und zweitens darin, dafs die Zahl der sich auf künstlichen Nährböden entwickelnden Bakterien von der Zusammensetzung desselben, von der Temperatur usw. abhängt. Die Bestimmung der Sauerstoffzehrung im Wasser stellt gewissermafsen eine Kombination des quantitativen bakteriologischen und chemischen Nachweises der organischen Substanzen dar. »Läfst man die entnommenen Proben unter Luftabschlufs etwa zweimal 24 Stunden unter gleichen Bedingungen stehen, so werden sich nach dieser Zeit bei einem Flusse, der stellenweise Verunreinigungen unterliegt, gröfsere charakteristische Differenzen im Sauerstoffgehalt zeigen . . . gibt es eine Reinigung von organischen Substanzen, so mufs sich eine solche unbedingt im Sauerstoffkonsum zeigen. Spaltungen organischer Substanzen können zwar ohne Sauerstoff vor sich gehen, aber die volle Beseitigung organischer Stoffe macht die Anwesenheit und Zehrung des Sauerstoffs zur Voraussetzung.« (Spitta[2]).

Die Methode Spittas besteht aus folgendem: Man nimmt Wasserproben aus einer gewissen Tiefe, indem man sich solcher Apparate bedient, welche das Zusammentreten von Luft und Wasser nicht zulassen. Dann wird in einer Portion des Wassers die Menge von gelöstem Sauerstoff sofort bestimmt und die andere in einen dunklen Raum gestellt bei einer Temperatur von ca. 22° C, wobei, um den Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffs zu verhindern, auf das Wasser eine Schicht Paraffinöl gegossen wird. Nach 48 oder nach 60 Stunden wird die Menge des freien Sauerstoffs in diesen Wasserproben wieder bestimmt. Hieraus wird die Quantität des verbrauchten Sauerstoffes für die Zeit des Experimentes festgestellt.

Der Sauerstoff im Wasser kann mit grofser Exaktheit und ohne allzugrofse Anforderungen an die Geschicklichkeit des Experimentators nach der Winklerschen Methode bestimmt werden. Immerhin wäre es erwünscht, wenn man Methoden hätte, die eine noch bequemere Bestimmung zulassen. Dies war für mich die Veranlassung, zwei Methoden, die in neuerer Zeit zu diesem Zwecke ausgearbeitet worden sind, zu prüfen, indem

ich sie mit der Winklerschen Methode verglich. Die eine ist eine kolorimetrische und rührt von Lord Ramsay[3]) her, die zweite ist eine volumetrische: die Sauerstoffbestimmung mit dem »Tenaxapparat« von Müller[5]).

Ich benutzte zugleich die Gelegenheit dieses Vergleiches zu einigen Beobachtungen über die Sauerstoffzehrung im Wasser der Isar oberhalb und unterhalb Münchens.

Das Verfahren Ramsays[3]) fufst darauf, dafs das farblose Kupferchlorür ($Cu_2 Cl_2$) bei Zutritt von Sauerstoff sich in Kupferchlorid ($Cu Cl_2$) verwandelt, welches bei Anwesenheit von Ammoniak das Wasser blau färbt. Der Apparat Ramsays besteht aus einem kleinen Kasten, in welchem sich 6 zugeschmolzene Glasröhren von gleicher Höhe und Weite befinden, die mit Lösungen von Kupferchlorid in Ammoniak von verschiedener Konzentration gefüllt sind. Das erste Gläschen entspricht 1 ccm freien Sauerstoffs in 1 l Wasser, das zweite 2 ccm usw. Aufserdem befinden sich im Apparate ein leeres Reagensgläschen von gleicher Gröfse, das mit geschliffenem Glasstöpsel geschlossen werden kann, Pipetten, Glastrichter mit Glashahn, die notwendigen Reagentien und ein Gefäfs, um Wasser aus beliebiger Tiefe herauszuholen. Die Bestimmung wird folgendermafsen ausgeführt: In das leere Reagensglas wird zuerst Paraffinöl in 1—2 cm hoher Schicht gegossen und darauf mit Hilfe einer langen Pipette, deren Ende ins Öl versenkt wird, so viel von dem zu untersuchenden Wasser eingeführt, bis die untere Fläche der Paraffinschicht in gleicher Höhe mit dem Halse des Reagensglases steht. Darauf wird im Glastrichter eine Messerspitze von Kupferchlorür in starker Salzsäure aufgelöst. Mit der Lösung verdrängt man zuerst die Luft aus dem Trichterröhrchen. Dann läfst man 2—3 Tropfen der Kupferchlorürlösung unter die Ölschicht ins Wasser fliefsen. Der im Wasser gelöste Sauerstoff verwandelt Kupferchlorür in Kupferchlorid und nach Hinzufügung von Ammoniak färbt sich das Wasser blau. Je mehr gelöster Sauerstoff im Wasser vorhanden ist, desto mehr Kupferchlorid bildet sich und desto intensiver wird die Blaufärbung des Wassers im Reagensglase. Durch Vergleich

seiner Farbe mit der Färbung der 6 Proberöhrchen wird die Menge des gelösten Sauerstoffs in Wasser festgestellt.

Leider dürfte die Anwendung des verlockend einfachen Verfahrens daran scheitern, dafs das Kupferchlorür kein genügend haltbarer Körper ist. Das dem Apparate von der Originalfirma beigegebene Präparat war ziemlich stark grün und färbte dem entsprechend die ammoniakalische Lösung ziemlich stark blau. Aber auch ein von der Firma Merck frisch bestelltes Präparat kam bei uns grünlich gefärbt an und färbte, mit aller Vorsicht gelöst, die ammoniakalische Lösung mit einer, 1—1½ ccm Sauerstoff im Liter Wasser entsprechenden Intensität. Wenn dies ein konstanter Fehler wäre, könnte man ihn korrigieren. Es war aber vorauszusehen, dafs die Oxydation des Präparates fortschreiten und dies immer neue Kontrollbestimmungen erforderlich machen würde, die nur dann eine exakte Korrektur in die Hand gäben, wenn stets genau gleiche gewogene Mengen des Präparates zur Verwendung kämen. Damit hat aber das Verfahren den Vorzug der Einfachheit verloren.

Ein weiterer Mangel des Apparates, der ihn für mich unbrauchbar machte, ist der, dafs seine Skala nur bis 6 ccm Sauerstoff in 1 l reicht, während ich es mit Wässern zu tun hatte, die gewöhnlich mehr als 6 ccm Sauerstoff im Liter enthielten. Auch hat die Skala eine zu grobe Teilung, als dafs man geringe Veränderungen des Sauerstoffgehaltes mit ihr konstatieren könnte.

Alle meine Erfahrungen stimmen mit denen Dr. Rideals[4]) überein. Auch er betont die Unmöglichkeit, völlig reines Kupferchlorür zu erhalten, da es in feuchtem Zustande sofort den atmosphärischen Sauerstoff an sich zieht und eine grüne Färbung annimmt, indem sich $CuCl(OH)$ bildet. Als einen weiteren Übelstand bezeichnet Rideal, dafs beim Auflösen des Kupferchlorürs in Salzsäure diese Lösung mit dem Sauerstoff der Luft in Berührung kommt. Weiter, hebt er hervor, dafs Nitrite im Wasser die Bestimmung fehlerhaft machen, indem sie ähnlich wie Sauerstoff auf Kupferchlorür wirken. Nach diesem Verfasser ist die Farbe der Standard-Gläser wenig stabil. Als Rideal ein Jahr nach seinen

ersten Versuchen den Ramsayschen Apparat wieder besichtigte, war die Färbung in den Gläsern bedeutend heller geworden.

Auch mit der volumetrischen Methode habe ich keine sehr befriedigende Erfahrung gemacht. Der von Müller geistvoll konstruierte Apparat »Tenax« ist sehr einfach und gestattet, die Wasseruntersuchungen am Ufer der Flüsse zu machen. Da dem Apparate eine genaue Beschreibung und Gebrauchsanweisung beigegeben wird, begnüge ich mich damit, die Grundzüge des Verfahrens anzugeben. 100 ccm Wasser werden in einem mit Paraffinöl gefüllten Apparate ausgekocht. Die ausgetriebenen Gase sammeln sich über dem Öl in einem kleinen Mefszylinder. Nachdem ihr Volumen hier gemessen wird, werden sie in eine V-förmige Röhre getrieben, in der sich Kupfer- und Ammoniaklösung befinden. In dieser Röhre wird der Sauerstoff zur Oxydation des Kupfers verbraucht, während der Stickstoff zurückbleibt. Nach einer bestimmten Zeit, in welcher der gesammte Sauerstoff absorbiert wird, wird der Stickstoff in den Mefszylinder zurückgeführt und gemessen. Wenn im Wasser freie Kohlensäure vorhanden ist, fügt Müller vor dem Kochen einige Tropfen $\frac{n}{22}$ Natronlauge hinzu, doppelt soviel als notwendig ist, um das Wasser mit Phenolphthalein rot zu färben. Aufserdem gibt er den Rat, Wasser, das voraussichtlich reich an leicht oxydierbaren organischen Bestandteilen ist, mit Kaliumpermanganatlösung rötlich zu färben, um den gelösten Sauerstoff während des Kochens vor dem Verbrauch durch Oxydation zu schützen.

Als ich mit dem Tenaxapparate das Münchner Leitungswasser zu untersuchen begann, bemerkte ich bald, dafs das Quantum der aus ein und demselben Wasser ausgekochten Gase ziemlich stark schwankt und um so gröfser wird, je länger das Kochen dauert. Diese Erscheinung erklärt sich dadurch, dafs beim Kochen des Wassers allmählich die darin enthaltenen doppeltkohlensauren Salze unter Freiwerden von Kohlensäure zerlegt werden, z. B. $Ca(HCO_3)_2 = CaCO_3 + H_2O + C_2O$. Es tritt daher im Tenaxapparate nebst Sauerstoff und Stickstoff nicht allein die freie Kohlensäure, sondern auch ein mehr oder

weniger grofser Teil der halbgebundenen aus. Wenn man darauf die Gase in die Absorptionsröhre übertreibt, wird nicht nur der Sauerstoff gebunden, sondern auch die Kohlensäure. Man findet daher den Sauerstoffgehalt des Wassers viel zu hoch, wenn das Wasser eine nennenswerte temporäre Härte besitzt.

I. Versuch. Das Mangfallwasser aus der Münchner Wasserleitung wird zur vollen Sättigung mit Luft 15 Minuten lang geschüttelt, dann auf 1/2 Stunde ruhig hingestellt, damit die nicht ausgelösten Luftperlen entweichen. Die Wassertemperatur 17°, Barometerstand 715 mm. 100 ccm Wasser werden 10 Minuten im Tenaxapparat gekocht. Die Menge der Gase beträgt 3,25 ccm. Bei weiterem Kochen dauert die Gasentwicklung fort, so dafs nach 15 Minuten langem Kochen 3,85 ccm ausgeschieden sind. Das weitere Kochen wurde aufgegeben, da die Mefsröhre im Apparat nur 4 ccm aufnimmt. Nach der Absorbtion betrug die Gasmenge 1,88 ccm; folglich beträgt die Menge der absorpierten Gase 1,87 ccm. Bei Umrechnen auf 760 mm Druck und 0° Temperatur erhalten wir 15,09 ccm Sauerstoff in 1 l Wasser. Nach Bunsen enthält das mit Luft gesättigte Wasser bei 17° C in 1 l 6,2—6,86 ccm Sauerstoff.

II. Versuch. Dasselbe Wasser, mit Luft geschüttelt, hat die Temperatur 15° C. Barometerstand 724,5 mm. Vor dem Kochen des Wassers wurden 4 Tropfen $\frac{n}{22}$ Natronlauge hinzugefügt (zweimal so viel als nötig zum Färben des Wassers in Anwesenheit von Phenolphthalein). Das Kochen mufste nach 15 Minuten unterbrochen werden, weil die Mefsröhre kein Gas mehr aufnehmen konnte. Im ganzen bekam ich 3,82 ccm Gas, nach Absorption 1,72 ccm. Also Sauerstoffmenge — 2,12 ccm. Bei 760 mm Druck und 0° Temperatur erhalten wir für 1 l 18,677 ccm. Bei 15° C enthält mit Luft gesättigtes Wasser nach Bunsen 6,3 ccm, nach Winkler 7,1 ccm im Liter.

III. Versuch. Dasselbe Wasser ohne Schütteln mit Luft. Temperatur 14,5° C. Barometerstand 720 mm. Beim Kochen wurden 5 Tropfen $\frac{n}{10}$ Permanganatlösung hinzugefügt. Nach 20 Minuten Kochen werden 3,63 ccm Gas erhalten. Nach Absorption — 1,82 ccm, d. h. absorbiert 1,81 ccm. Bei 760 mm Druck und 0° Temperatur nach Umrechnen auf 1 l haben wir 15,62 ccm. Unter denselben Bedingungen enthält 1 l nach Bunsen 6,63 ccm, nach Winkler 7,19 ccm.

Es ist klar, dafs man den Fehler, der aus der Zerlegung der Bikarbonate entspringt, dadurch beseitigen kann, dafs man dem Wasser vor dem Kochen so viel Lauge zusetzt, dafs nicht nur die freie Kohlensäure gebunden, sondern auch das doppeltkohlensaure Salz vollständig in Monokarbonat umgewandelt wird.

Um das genau machen zu können, müfste der Sauerstoffbestimmung eine quantitative Bestimmung dieser Salze vorausgehen. Da dies undurchführbar ist, stellte ich einige Versuche an, um zu erfahren, wie ein kleiner Laugenüberschufs im Wasser auf das Untersuchungsresultat wirkt. Ich habe ausgerechnet, dafs zur völligen Zerlegung der doppeltkohlensauren Salze von Kalk und Magnesia im Münchner Mangfallwasser (110 mg CaO und 32 mg MgO in 1 l) rund 0,3 ccm Normalnatronlauge erforderlich ist.

IV. Versuch. Für diesen Versuch benutzte ich dasselbe Wasser, welches dem I. Versuch diente. Zu 100 ccm des Mangfallwassers wird 0,3 ccm $\frac{n}{1}$ Natronlaugelösung zugesetzt und 5 Tropfen $\frac{n}{10}$ Kaliumpermanganatlösung. Die Sauerstoffmenge wird bestimmt gleich 6,35 ccm im Liter (ohne Alkali 15,09 ccm, siehe Versuch I).

V. Versuch. Zum Wasser des III. Versuches wird 0,3 ccm $\frac{n}{1}$ Natronlauge zugesetzt und 5 Tropfen $\frac{n}{10}$ Kaliumpermanganatlösung. Bestimmt wird 6,85 ccm (statt 15,62 ccm ohne Alkali, siehe Versuch III) Sauerstoff in 1 l. Genau ebensoviel (6,85 ccm) fand ich bei einer Bestimmung nach Winkler.

VI. Versuch. Das Mangfallwasser aus Versuch II. Zusatz 0,5 ccm $\frac{n}{1}$ Natronlaugelösung und 10 Tropfen $\frac{n}{10}$ Permanganatlösung. Sauerstoff = 6,35 ccm (statt 18,677 ccm).

Wie aus diesen Angaben hervorgeht, erhält man bei dieser Modifikation des Verfahrens aus dem sehr reinen Mangfall-Leitungswasser in der Tat annähernd genau die erwartete Sauerstoffmenge. Anders verhielt es sich, wie zu erwarten war, mit dem Isarwasser. In der folgenden Tabelle Nr. 1 (S. 332) ist eine Reihe von Parallelbestimmungen des Sauerstoffgehaltes nach Müller und Winkler angeführt. Aus dieser Tabelle sehen wir, dafs nach dem Müllerschen Verfahren erheblich kleinere Mengen Sauerstoffs gefunden wurden.

Die Erklärung dieses Unterschiedes liegt darin, dafs beim Kochen der alkalischen Flüssigkeit ein erheblicher Teil des Sauerstoffs zur Oxydierung der im Wasser vorhandenen organischen Stoffe verbraucht wird. Die geringe Menge Kaliumpermanganat,

die dem Wasser nach der Vorschrift Müllers zugesetzt wird, schützt dagegen nicht ausreichend. Sowohl die zu grofse als die zu kleine Laugenzufuhr macht somit die Resultate ungenau. Ich komme daher zu dem Schlusse, dafs auch das »Tenax«-Verfahren nicht geeignet ist, das Winklersche zu verdrängen.

Tabelle I.

Wasserprobe	Sauerstoffgehalt in 1 l: nach der Winklerschen Methode			nach der Müllerschen Methode		
	Sofort	Später		Sofort	Später	
	Sauerstoff ccm	nach wieviel Stdn.	Sauerstoff ccm	Sauerstoff ccm	nach wieviel Stdn.	Sauerstoff ccm
1. Isarwasser b. Thalkirchen	7,115	48	6,815	5,38	48	5,16
2. Isarwasser b. Thalkirchen	6,245	65	5,545	5,06	65	4,89
3. Isarwasser b. Englischen Garten .	6,36	67	2,53	5,46	67	3,12
4. Isarwasser b. Thalkirchen	6,11	67	5,60	5,07	67	4,98
5. Isarwasser b. Englischen Garten .	6,15	67	4,65	5,05	67	3,96
6. Isarwasser b. Freising	5,56	66	1,76	4,90	66	2,57
7. Isarwasser b. Freising	6,36	49	4,28	5,655	49	3,915
8. Leitungswasser m. den Abwässern 1 : 20 gemischt .	6,88	48	2,99	6,19	48	3,97

Ich erlaube mir nun, einige Zahlen über den Sauerstoffgehalt des Isarwassers beizufügen. Um die Beurteilung der unten folgenden Beobachtungen zu ermöglichen, habe ich nur noch folgendes anzugeben:

Ich benutzte die Winklersche Methode mit den Kautelen, die Chlopin(6) empfiehlt. Das Flufswasser entnahm ich in 1 m Tiefe und füllte es gleich am Ufer ab in 4 Glasgefäfse mit angeschliffenem Stöpsel; jede Flasche war 250—300 ccm grofs. In zwei von ihnen wurden sofort die Reagentien hinzugefügt, die beiden anderen, hermetisch verschlossen, so schnell wie möglich ins Laboratorium geschafft. Dort blieben sie 48—67 Stunden im Thermostaten bei 22—23° C. Um die Luft völlig abzuschliefsen, wurde der Hals dieser beiden Flaschen mit Paraffinöl gefüllt. Bei einiger Übung kann man leicht berechnen, wieviel Öl einzugiefsen ist, damit es durch die Zunahme des Wasservolums im Thermostaten nicht ganz herausgedrängt wird.

Ich nahm das Wasser an 3 Punkten der Isar: bei Thalkirchen, vor Eintritt des Flusses in die Stadt, dann flufsabwärts beim Englischen Garten, wo der Flufs aus der Stadt heraustritt und endlich bei Freising.

Bei Thalkirchen ist der Flufs noch nicht durch die städtischen Abwässer verunreinigt; beim Englischen Garten ist er durch die Abwässer des am rechten Ufer liegenden Stadtteiles verunreinigt. Der Hauptkanal der Münchner Kanalisation mündet in die Isar 6 km unterhalb des Englischen Gartens. Von dort fliefst das Wasser ca. 26 km weiter bis Freising, wo ich die 3. Probe entnahm.

Aufserdem stellte ich noch einige Versuche mit reinem Leitungswasser an und mit solchem, welchem ich $^1/_{20}$ vom Münchner Kanal-Abwasser zugesetzt hatte. Die Bestimmung des gelösten Sauerstoffs in dem an einem Tage an verschiedenen Punkten der Isar entnommenen Wasser wurde von mir zweimal ausgeführt. Da ich die Stromgeschwindigkeit und den ungefähren Abstand zwischen den Punkten, wo das Wasser entnommen wurde, kannte, so rechnete ich aus, in welchem Zeitabstand das Wasser zu entnehmen war, um an verschiedenen Punkten des Flusses dasselbe Wasser zu erhalten. Diese Rechnung ist selbstverständlich nur approximativ.

Tabelle II.

Wasserprobe	Datum	Temperatur des Wassers	Barometerstand	Kubikzentimeter Sauerstoff für 1 l		Differenz	Sauerstoff in 1 l		Sauerstoffzehrung		
		°	mm	sofort	berechn. für volle Sättigung b. dem angegeben Drucke u. d. angegeben Temperatur		nach Stdn.	ccm	Gesamt ccm	pro 1 Std. ccm	
1. Isarwasser b. Thalkirchen	1906 28. V.	12	725	7,25	7,28	0,03	48	6,88	0,37	0,0077	
2. Isarwasser b. Freising	30. V.	14	720	6,465	6,89	0,425	48	5,27	1,19	0,025	
3. Isarwasser b. Thalkirchen	9. VI.	12,5	720	7,115	7,29	0,075	48	6,815	0,3	0,0062	
4. Isarwasser b. Thalkirchen	22. VI.	14	722	6,245	6,917	0,652	65	5,545	0,7	0,0107	Hoher Wasserstand Dasselbe ist schmutzig.
5. Isarwasser b. Englischen Garten		13	722	6,36	7,09	0,73	67	2,53	3,83	0,0571	do. Wegen d. stark. Regens sind die Notausflüsse in Tätigkeit
6. Isarwasser b. Thalkirchen	29. VI.	19	719	6,11	6,26	0,15	67	5,60	0,51	0,0076	
7. Isarwasser b. Englischen Garten		19	719	6,15	6,26	0,11	67	4,65	1,50	0,0224	
8. Isarwasser b. Freising		19	719	5,56	6,26	0,70	66	1,76	3,80	0,0575	
9. Isarwasser b. Freising	23. VII	16	720	6,36	6,61	0,25	49	4,28	2,08	0,0424	
10. Leitungswasser mit d. Abwässern 1 : 20 gemischt	12. VI.	12	717	6,88	7,21	0,33	48	2,99	3,89	0,081	
11. Leitungswasser	31. VII.	14,5	720	6,85	6,82	0,03	53	6,67	0,18	0,0034	

Die Ergebnisse meiner leider sehr spärlichen Versuche sind folgende:

1. Das Wasser der Isar ist vor Eintritt in München etwas reicher an Sauerstoff als unterhalb der Stadt.
2. Das Sauerstoffdefizit in der Isar, die sehr starke Strömung hat, ist im Vergleiche mit den bei anderen Flüssen erhobenen Befunden klein.
3. Die Sauerstoffzehrung im Isarwasser bei Freising ist viel gröfser als bei Thalkirchen, wie es nach dem höheren Keimgehalte zu erwarten war.
4. Die Sauerstoffzehrung im Wasser erweist sich als sehr viel empfindlicherer Mafsstab zum Bemessen des Verunreinigungsgrades des Flusses durch organische Stoffe, als die Bestimmung des augenblicklichen Sauerstoffgehaltes.

1) S. die Arbeiten von Spitta[2]), Ohlmüller[7]), Preu[8]), Kifskalt[9]), Bresina.[10])

Literaturverzeichnis.

1. Karl Knauthe, Bioch. Zentralbl., Bd. 18, Nr. 22.
2. Oskar Spitta, Arch. f. Hygiene, Bd. 38, S. 160 und 235.
3. Ramsay und Ida Hornfray, Separatabdruck, auch Journ. Chem. Industry, 1901, 20, 1071—1075.
4. Rideal, Verhandlungen nach dem Vortrag von Ramsay.
5. Friedrich C. G. Müller, Separatabdruck aus Forschungsbericht aus der biolog. Station zu Plön, Bd. 10, S. 1903.
6. Chlopin, Arch. f. Hygiene, Bd. 27, S. 18.
   » Arch. f. Hygiene, Bd. 32, S. 294.
7. Ohlmüller, Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt, 1903, Bd. 20, S. 258.
8. Preu, »Das Abwasser von Erlangen und die Rednitz an der Einmündung des Hauptsiels. Inaug.-Diss. Erlangen, 1905.
9. Kifskalt, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 53.
10. Bresina, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 53, S. 369.

Zur Frage der Verbreitung des Abdominaltyphus durch Trinkwasser.

Von

Privatdozent Dr. **S. W. Korschun.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Prof. M. Gruber.)

Die Frage über das Schicksal der in die natürlichen Gewässer gelangenden pathogenen Mikroorganismen ist von hervorragender praktischer Bedeutung. Es ist dabei zu entscheiden, ob die pathogenen Mikroorganismen so lange im Wasser ihre Lebensfähigkeit und Virulenz behalten, dafs das Wasser als Überträger der Infektionskrankheiten angesehen werden kann. Von der Entscheidung dieser Frage sind viele sanitäre Mafsregeln abhängig, die gegen die epidemische Verbreitung einiger Infektionskrankheiten vorgenommen werden. Gewifs tragen die epidemiologischen Tatsachen bedeutend zur Aufklärung dieser wichtigen Frage bei, aber nur auf experimentellem Wege ist eine vollkommen genaue und wissenschaftliche Lösung möglich. Leider wird jedoch unsere Arbeit auf diesem Gebiete durch die Unvollkommenheit der bakteriologischen Methodik bedeutend erschwert.

Bekanntlich vertrat Pettenkofer die Ansicht, dafs das Wasser an der Verbreitung vom Typhus und Cholera gar nicht beteiligt sei. Die Pettenkoffersche Lehre findet jetzt noch einen überzeugten Anhänger in Prof. Emmerich. In seiner

im Jahre 1904 erschienenen Abhandlung sagt Emmerich folgendes:

»Man braucht kein Prophet zu sein, um sagen zu können, dafs in ähnlicher Weise wie bei der Malaria in nicht zu ferner Zeit auch für Typhus und Cholera der bakteriologische Beweis erbracht werden wird, dafs ihre Entstehung und Verbreitung mit dem Wasser nichts zu schaffen hat«. (§ 80). Weiter behauptet Emmerich, dafs er jetzt schon imstande sei zu beweisen, dafs das Entstehen der Typhus- und Choleraepidemien durch das Wasser der Brunnen und Flüsse unmöglich sei. Seinen Artikel schliefst Emmerich mit dem kategorischen Ausruf: »Nieder mit der Trinkwassertheorie!« (Über die Beurteilung des Wassers vom bakteriologischen Standpunkte. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genufsmittel usw., Bd. VIII, S. 77).

Ist es wirklich Emmerich endlich gelungen, den jahrelang andauernden Streit über die Rolle des Wassers bei der Verbreitung von Typhus und Cholera zu entscheiden? Sind die neuen, von ihm mitgeteilten Tatsachen in der Tat dermafsen unbestreitbar und beweisend, dafs wir berechtigt sind, mit ihm ein für allemal anzuerkennen, dafs die Verbreitung des Typhus und der Cholera durch Wasser unmöglich sei?

Im Laufe der letzten 20 Jahre, sagt Emmerich, sind im Münchener hygienischen Institute vielfach Wasseruntersuchungen ausgeführt worden in Fällen, wo das Wasser in Hinsicht auf Typhusverbreitung verdächtig war. Bei keiner dieser Untersuchungen konnten Typhusbazillen nachgewiesen werden. Die in der Literatur angegebenen Fälle, bei denen die Autoren Typhusbazillen gefunden haben, sind nach Emmerichs Anschauung als zweifelhaft anzusehen, wegen der Schwierigkeit der Identifizierung der aus dem Wasser gezüchteten Mikroorganismen mit den echten Typhusbazillen.

Wir wollen hier gleich unsere Meinung einschalten, dafs das Fehlschlagen des Nachweises von Typhusbazillen im Wasser wenig beweist, da unsere Methodik leider noch äufserst unvollkommen ist, wenn es sich um wenige Typhusbazillen in keim-

reichem Wasser handelt. Das Ungenügende der Identifizierung wird man Emmerich für eine Untersuchung aus früherer Zeit unbedingt zugeben müssen. Indessen sind in neuerer Zeit einige Fälle bekannt geworden, in denen der Nachweis der Typhusbazillen im Wasser mit vollster Sicherheit geführt worden ist. Diesen Fällen reiht sich eine Beobachtung an, die Herr Oberarzt Dr. Waldmann im vergangenen Sommer im hiesigen Institut gemacht hat. In einer am 28. April 1906 entnommenen Wasserprobe aus dem Brunnen eines Hauses im Orte M. bei Plattling in Niederbayern, in dem ein Typhuskranker lag, konnten Typhusbazillen mit absoluter Sicherheit nachgewiesen werden. Es stellte sich hinterdrein heraus, dafs an dem Brunnen die Wäsche des Typhuskranken gewaschen worden war. In einer am 10. Mai entnommenen 2. Probe konnten Typhusbazillen nicht mehr aufgefunden werden. Weitere Erkrankungen am Typhus kamen nicht vor. Viel wichtiger als der soeben besprochene ist der folgende Einwand Emmerichs. Er sagt: »Es ist auch aus folgenden Gründen höchst unwahrscheinlich, dafs Typhus- und Cholerabazillen in einem Brunnen länger als 48 Stunden nachweisbar sind, auch wenn ein ganzer Typhusstuhl in einen Brunnen gelangt, was im zivilisierten Deutschland doch kaum denkbar ist. Bringt man nämlich gröfsere Mengen von Typhusbazillen in Flufs-, Leitungs- oder Brunnenwasser, so werden sie rasch in grofser Zahl vernichtet«. (§ 81 ibidem.)

Als Beweis gibt Emmerich folgende, gemeinsam mit Gemünd ausgeführte Versuche an:

1 ccm Wasser enthält:

sofort nach der Aussaat	21600000	Typhusbazillen,
» 44 Stunden	7200000	»
» 66 »	128570	»
» 105 »	0	»

1 ccm Münchener Leitungswasser enthält:

sofort nach der Aussaat	10543000	Typhusbazillen,
» 24 Stunden	1800000	»
» 48 »	0	»

1 ccm Wasser aus dem Brunnen im Hofe des hygienischen Instituts in München enthält:

sofort nach der Aussaat 24300000 Typhusbazillen,
» 24 Stunden 2885714 »

Nach Ausführung entsprechender Berechnungen meint Emmerich: »Man könnte also, man höre und staune! — Tausende Typhusstühle täglich in den Brunnen des hygienischen Institutes werfen, — die darin enthaltenen Typhusbazillen wären bis zum nächsten Tag daraus verschwunden«. (§ 85 ibidem.)

Wodurch wird denn eine so scharf ausgesprochene, bakterientötende Wirkung der natürlichen, unsterilisierten Wasserarten bedingt? Es ist unmöglich, diese Wirkung dem schädlichen Einflusse des Wassers als solchem, d. h. seiner ungünstigen, chemischen Zusammensetzung für die Bakterien, oder dem Mangel an Nährsubstanzen zuzuschreiben. In der Tat leben die pathogenen Bakterien in demselben Wasser nach erfolgter Sterilisation sehr lange und ihre Zahl vermindert sich bei weitem nicht so schnell wie in nicht sterilisiertem Wasser. Das schnelle Verschwinden der pathogenen Bakterien ist nach Emmerichs Meinung nicht als Folge der Konkurrenz der Wasserbakterien anzusehen; er begründet dies durch folgenden Versuch: Läfst man ein in bakteriologischer Hinsicht reines Wasser, das nur 2—4 Keime in 1 ccm enthält, so lange stehen, bis alle Bakterien verschwunden sind, so wirkt es doch noch bakterientötend. Diese Tötung besorgen nach Emmerich die Flagellaten im Wasser. Bringt man in ein solches Wasser Typhusbazillen, so findet man schon nach kurzer Zeit lebhaft sich bewegende Flagellaten, welche die Typhusbazillen gierig auffressen.

Emmerich und Gemünd zeigten, dafs die aus einem mit Typhusbazillen reichlich verimpften Wasser entnommenen Flagellaten mit Typhusbazillen angefüllt waren, in ihrem Innern 5 bis 20 Stück enthielten. Die in den Leibern der Flagellaten eingeschlossenen Bakterien wiesen deutlich ausgesprochene Zerfallserscheinungen auf, als ob sie dort zerschmelzen würden. Emmerich vergleicht die Rolle der Flagellaten im Wasser mit der

Rolle der Leukozyten im Blute. Die einen wie die anderen scheinen von der Natur als Beschützer ihres Gebietes gegen das Eindringen fremdartiger Elemente bestimmt zu sein.

Die faktische Seite der Beobachtungen von Emmerich und Gemünd ist durch O. Huntemüller (Arch. f. Hyg., Bd. 54, S. 89) und durch Fehrs (Hyg. Rundschau XVI, Nr. 3, S. 113) bestätigt worden. Auch sie fanden, daſs die Flagellaten einen grossen Anteil an der Vernichtung der pathogenen Mikroorganismen im Wasser haben. Huntemüller behauptet, daſs die Typhusbazillen nach 2 bis 3 Tagen aus dem Wasser so weit verschwinden, daſs ihr Nachweis mit Hilfe der üblichen Gelatineplattenmethode nicht mehr gelingt.

Mit Hilfe des Drigalski-Conradischen Nährbodens konnte Fehrs in manchen Wassersorten Typhusbazillen noch am 20. Tage finden. In anderen Fällen gelang es ihm nicht, sie nach so langer Zeit nachzuweisen, sie fanden sich nur am 4., 5., 6., 7. und 8. Tage nach der Aussaat. Fehrs nimmt an, daſs die Resultate der Versuche durch die verschiedene, chemische und bakteriologische Zusammensetzung der Wasserarten, sowie durch die anfängliche Menge der Flagellaten beeinfluſst werden. Unter natürlichen Verhältnissen müssen bei der Vernichtung der pathogenen Mikrobien neben den Flagellaten auch noch viele andere Faktoren mitwirken. Fehrs schlieſst aus seinen Versuchen, daſs Emmerich zu weit gehe, wenn er annimmt, daſs er die Unmöglichkeit der Verbreitungen der Infektion durch das Wasser bewiesen habe. Fehrs bezweifelt weiter die Bedeutung der Angaben Emmerichs über die Zahl der Typhusbazillen im Wasser zu verschiedenen Zeiten nach ihrer Verimpfung in das Wasser. Er hat sich durch eine Reihe mühsamer Versuche überzeugt, wie schwer es ist, die Zahl der pathogenen Keime in einem, zahlreiche, sich schnell vermehrende Wasserbakterien enthaltenden Wasser zu bestimmen.

Somit haben zwar sowohl Huntemüller als Fehrs Emmerichs Angaben über das Vorhandensein von Flagellaten in den natürlichen Gewässern, sowie über die wichtige Rolle dieser Protozoen bei der Vernichtung der pathogenen Keime im Wasser be-

stätigt. Beide Autoren verhalten sich aber verschieden zu dem Hauptsatze Emmerichs, daſs das Wasser keine vermittelnde Rolle bei der Verbreitung der Epidemien spiele. Während Huntemüller, der unter Emmerichs Leitung arbeitete, mit dem letzteren über die Unmöglichkeit der Verbreitung der Infektion durch das Wasser übereinstimmt, betrachtet Fehrs diese Frage als experimentell noch lange nicht im Sinne Emmerichs entschieden. Gewisse epidemiologische Tatsachen stehen nach der allgemeinen Ansicht im Widerspruch mit der Behauptung Emmerichs. Die Laboratoriumsversuche über die Lebensdauer der pathogenen Bakterien im Wasser haben die widersprechendsten Resultate gegeben.

Es gibt ganze Reihen älterer und neuerer Arbeiten, die Emmerichs Angaben bestätigen. Zu nennen sind die Arbeiten von Karlinski, Emmerich und Pinto, Jordan, Russel und Zet. Diese Autoren behaupten, daſs die Typhusbazillen in natürlichen Gewässern in 1 ½—3—4—5 Tagen, Choleravibrionen noch früher zugrunde gehen. Im Gegensatz dazu fanden aber A. Heider und von Kerner im Institute Grubers in Wien Choleravibrionen in unsterilisiertem Leitungswasser noch nach 5—7 Tagen und in unsterilisiertem Donauwasser noch nach 3 Tagen lebend und virulent. Nach Wernicke behalten die Choleravibrionen im Schlamm der Aquarien ihre Lebensfähigkeit bis zu 4 Monaten und nach Hofmann sollen die Typhusbazillen im Wasser der Aquarien bis 4 Wochen und im Schlamme derselben bis 8 Wochen lebend bleiben. Die Verschiedenheit der Resultate der Autoren läſst sich in bedeutendem Maſse durch die Mannigfaltigkeit der zum Nachweis der pathogenen Mikroorganismen im Wasser angewandten Methodik erklären. Je vollkommener die Methode, nach desto längerem Verweilen gelang es, die Typhusbazillen und Choleravibrionen im Wasser nachzuweisen. Selbst Emmerich stellt nicht in Abrede, daſs ein längeres Erhalten der pathogenen Keime im Wasser möglich wäre, falls dieselben durch Einschluſs in feste Partikelchen vor den Flagellaten geschützt sind. Jedoch sammeln sich nach seinen Beobachtungen um solche Partikelchen herum die Flagel-

laten, die bereit sind, jeden freiwerdenden Mikroben zu verschlingen. Aufserdem behauptet Emmerich auf Grund anderer Beobachtungen, dafs ein oder einige Typhusbazillen, in homöopathischen Verdünnung mit Wasser genossen, keine Infektion verursachen, und dafs so sicherlich keine Epidemien entstehen können (a. a. O. S. 82). In Anbetracht der Schlüsse, welche Professor Emmerich aus seinen interessanten Beobachtungen über die Tätigkeit der Flagellaten zieht, unternahm auch ich eine Reihe von Versuchen über diesen Gegenstand. Ich wünschte vor allem mir eine Vorstellung über die Zahl der Flagellaten in natürlichen Wässern zu verschaffen und darüber Klarheit zu bekommen, wie lange sich Flagellaten und Typhusbazillen nebeneinander halten können. Leider ist es wegen Mangel an Zeit nicht gelungen, meine Beobachtungen zu Ende zu führen und aufzuklären, nach wieviel Tagen nach der Aussaat die Typhusbazillen bei Anwendung der besten Methodik nicht mehr zu finden sind. Auch haben wir nicht genügend die wichtige Frage bearbeitet, wie lange die Typhusbazillen am Leben bleiben, falls sie, wie es bei natürlichen Verhältnissen der Fall ist, in ganz unbedeutender Menge ins Wasser gelangen. Wie wir sehen werden, sprechen die wenigen Versuche, die wir in dieser Richtung ausgeführt haben, dafür, dafs beim Einbringen geringer Mengen von Typhusbazillen ins Wasser dieselben länger im Wasser nachgewiesen werden können als beim Verimpfen gröfserer Mengen. In dieser Hinsicht stimmen unsere Versuche mit den Angaben Huntemüllers überein, welcher behauptet, dafs beim Einbringen geringer Mengen von Typhusbazillen ins Wasser die Flagellaten sich nicht so schnell vermehren und sich daher die Typhusbazillen länger im Wasser erhalten können. Huntemüller verimpfte gewöhnlich auf 100 ccm Wasser 1—3 Platinösen einer 24 stündigen Agarkultur von Typhusbazillen. Unter diesen Bedingungen verschwanden die Typhusbazillen nach 2—3 Tagen. Als er aber eine annähernd 3—4 mal geringere Menge der Typhusbazillen (aber immerhin noch sehr viel) verimpfte, fand er sie in einem Versuche noch am 10. Tage, in zwei anderen am 6. Tage. Es dünkt uns, dafs Emmerichs Versuche den Mangel

aufweisen, dafs er künstlich günstige Bedingungen für die Vermehrung der Flagellaten herstellte, indem er ihnen reichliches Nährmaterial in Form von grofsen Mengen vou Typhuskultur gab und sie in möglichst günstige Temperaturverhältnisse (Zimmertemperatur 20—21° C) brachte. Selbstverständlich vermehren sich dabei die Flagellaten in solchen Mengen, wie das unter gewöhnlichen, normalen Bedingungen nicht verkommt. Es ist daher sehr gewagt, auf Grund der Resultate, die unter solchen künstlichen Bedingungen erhalten worden sind, darüber Schlüsse zu ziehen, was unter natürlichen Verhältnissen irgendwo in einem Brunnen oder einem Flusse geschieht.

Um einen Begriff über die Menge der Flagellaten im Wasser zu erhalten, verfuhren wir folgendermafsen:

Mit dem zu untersuchenden Wasser wurde ein steriles Gefäfs gefüllt und zwecks gleichmäfsiger Verteilung der Bakterien und Flagellaten sorgfältig geschüttelt. Alsdann wurde das Wasser zu gleichen Mengen auf eine Reihe von sterilen Reagensgläsern, die mit Watte verschlossen waren, verteilt. In diese Reagensgläser wurde eine Aufschwemmung von Typhusbazillen verimpft. Nachdem die Reagensgläser sorgfältig durchschüttelt waren, wurden sie an einem dunklen Orte bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Das Aufschütteln der Reagensgläser wurde jeden Tag wiederholt. Täglich wurden jedem Reagensglase Tropfen zur mikroskopischen Untersuchung entnommen. Die Besichtigung der Tropfen wurde mit dem Objektiv Zeifs C und Okular 4 und genauer mit dem Objektiv DD und Okular 4 ausgeführt.

Versuch I am 23. VI. 1906. Es gelang mir bei der sorgfältigsten mikroskopischen Untersuchung nicht, in dem der Wasserleitung entnommenen Wasser unmittelbar Flagellaten festzustellen. Das Wasser wurde alsdann zu je 10 ccm in 76 Reagensgläser verteilt. In jedes Reagensglas wurde je 0,2 ccm einer Typhusagarkultur, die mit 10 ccm desselben Wassers abgeschwemmt worden war, zugesetzt. Am 2. Tage schon konnte man in einzelnen Reagensgläsern Flagellaten feststellen. Die Zahl der Gläser mit Flagellaten nahm mit jedem Tage zu, so dafs am 7. Tage Flagellaten in 45 Reagensgläsern vorgefunden wurden. Ihre Zahl war in den einzelnen Reagensgläsern ganz verschieden. In 28 Reagensgläsern waren sie so zahlreich, dafs in jedem Tropfen mehrere Dutzende gezählt werden konnten, in den übrigen 17 waren sie in viel geringerer Anzahl vorhanden, so dafs nur

einige Exemplare in einem Tropfen oder nur ein einziges in 4—6 Tropfen aufgefunden werden konnten. Zugleich mit den Flagellaten wurden in zwei Reagensgläsern Infusorien nachgewiesen. Nach weiteren 3 Tagen waren Flagellaten noch in 8 anderen Reagensgläsern nachweisbar, so dafs am 10. Tage nach Beginn des Versuches in 53 von 76 Reagensgläsern sich Flagellaten befanden, in 5 darunter gleichzeitig auch Infusorien. In 760 ccm Wasser waren somit ursprünglich 53 Stück Flagellaten vorhanden oder in 1 l rund 70 Stück; wenn wir annehmen, dafs in jedem Röhrchen, in dem Flagellatenwachstum eingetreten ist, ursprünglich nur 1 Exemplar davongekommen ist. Dies dürfte allerdings nicht ganz zutreffend sein. Auch ich konnte gleich Emmerich, zwei Arten von Flagellaten — »Bodo ovatus« und »Bodo saltans« — genau identifizieren. Aufserdem sah ich in einzelnen Reagensgläsern eigenartige, stäbchenähnliche, lebhaft bewegliche Formen, die ihrer Gröfse nach kleiner als Bodo ovatus und saltans waren. Es gelang mir nicht, festzustellen, ob es sich um eine besondere Art von Protozoen oder um ein Entwicklungsstadium der Flagellaten handelte.

Die Reagensgläser, in denen sich gröfsere Mengen Flagellaten und Infusorien befanden, waren leicht schon mit blofsem Auge erkennbar: das Wasser war in denselben vollständig klar, während die Reagensgläser, welche keine Protozoen enthielten, trübes Wasser aufwiesen; am Boden derselben war ein Sediment der abgesetzten Bakterien vorhanden.

Am 15. Tage wurden 5 Reagensgläser untersucht: 2 ohne Flagellaten und 3 mit besonders reichlichem Gehalt an Flagellaten. Die Zahl der Bakterien in diesen Reagensgläsern war folgende:

Nr. des Reagensglases	Sind Flagellaten vorhanden?	Zahl der Kolonien aus 1 ccm
9	nicht vorhanden	57 344 000
14	nicht vorhanden	35 840 000
16	vorhanden	1 340 000
17	vorhanden	1 216 000
21	vorhanden	840 000

Diese 5 Reagensgläser sowie auch noch 2 andere (Nr. 1 und 4), welche viele Flagellaten enthielten, wurden auf ihren Gehalt an Typhusbazillen untersucht. Für jedes Reagensglas wurden 3 grofse Petrischalen mit Conradi-Drigalskischem Nährboden verwendet. Auf die erste Schale wurden 0,2 ccm des Wassers aufgegossen und mittels eines Glasspatels auf die Oberfläche des Nährbodens gleichmäfsig verteilt, worauf in bekannter Weise mit demselben Spatel nacheinander die Oberfläche des Nährbodens in den beiden andern Schalen bestrichen wurde. Nach 24 Stunden entwickelten sich in sämtlichen 7 Wasserproben auf der zweiten und dritten Schale zahlreiche charakteristische Typhuskolonien. Die erste Schale war mit einem dicken

Bakterienrasen bedeckt. Die Zahl der typhusähnlichen Kolonien auf der zweiten und dritten Schale war so grofs, dafs ihre Zählung unmöglich war. Einzelne von diesen Kolonien wurden auf Agar zur weiteren Untersuchung überimpft. Die bakteriologische Diagnose geschah durch die Feststellung der Wachstumseigenschaften auf verschiedenen Nährböden und mittels Agglutination durch spezifisches Serum. Es stellte sich heraus, dafs die auf diese Weise aus dem Wasser gezüchteten Bakterien die typischen Eigenschaften der Typhusbazillen zeigten und durch spezifisches Serum in denselben Verdünnungen wie die ursprüngliche Kultur (1 : 12800) agglutiniert wurden. Es unterlag also keinem Zweifel, dafs die Typhusbazillen ihre Lebensfähigkeit und biologischen Eigenschaften noch am 15. Tage nach ihrer Einführung in das Wasser der Münchener Wasserleitung vollständig beibehalten hatten bei Anwesenheit wie bei Abwesenheit von Flagellaten.

Versuch II am 10. VII. 1906. In 50 Reagensgläser kamen je 10 ccm Leitungswasser und je $^{1}/_{10}$ Öse Typhuskultur. Flagellaten wurden schliefslich in allen aufser einem Reagensglase vorgefunden. In dem einzigen, wo sie nicht vorhanden waren, konnten weder Flagellaten noch andere Protozoen, trotz sorgfältiger Untersuchung innerhalb von 7 Tagen nachgewiesen werden. In 2 Reagensgläsern wurden aufserdem Infusorien festgestellt. Im 2. Versuche wurden also Flagellaten im Leitungswasser in viel gröfserer Anzahl vorgefunden als im 1. Ich mufs hier bemerken, dafs das Wetter im Mai und Juni in München kalt war, während im Juli sich warmes Wetter einstellte. Am 9. Tage wurde die Zahl der Keime im Reagensglase, das keine Flagellaten enthielt, bestimmt und gleich 43000000 in 1 ccm gefunden, während in einem der Reagensgläser mit zahlreichen Flagellaten im ganzen 300000 in 1 ccm sich vorfanden.

Versuch III am 20. VII. 1906. In 38 Reagensgläser kamen je 1 ccm Leitungswasser + 2 ccm steriles Leitungswasser + 0.02 Öse Typhuskultur. Flagellaten wurden im Laufe von 10 Tagen in 5 Reagensgläsern gefunden (130 Stück in 1 l). Nach 6 Tagen wurden in einem Reagensglase, das Flagellaten enthielt, 50350000 Keime in 1 ccm Wasser festgestellt, während in einem Reagensglase ohne Flagellaten 13300000 Keime gezählt wurden. Nach 10 Tagen war die Zahl der Keime in denselben Reagensgläsern: ohne Flagellaten 30464000, mit Flagellaten 420000 in 1 ccm. Typhusbazillen fanden sich am 6. Tage des Versuches in überaus reichlicher Menge in beiden Reagensgläsern vor. Später wurden Untersuchungen auf Typhusbazillen bei dieser Versuchsreihe nicht ausgeführt.

Versuch IV am 17. VII. 1906. In 29 Reagensgläser kamen je 0,5 ccm Wasser aus der Isar + 2,5 ccm steriles Leitungswasser + 0,02 Öse Typhuskultur. Flagellaten wurden nur in 2 Reagensgläsern nicht gefunden. Infusorien waren in 3 Reagensgläsern festgestellt.

Versuch V am 17. VII. 1906. Dasselbe Isarwasser wie in Versuch IV, zu je 0,1 ccm + 2,9 sterilen Leitungswassers + 0,02 Öse Typhuskultur auf 1 Reagensglas. Von 26 Reagensgläsern wurden Flagellaten nur in 8 gefunden

(3076 Stück in 1 l). Auch in diesem Versuche war die Zahl der Keime in den Reagensgläsern ohne Flagellaten viel gröfser als in den Reagensgläsern mit Flagellaten und zwar:

Reagensgläser	Zahl der Keime in 1 ccm Wasser		Typhus-bazillen
	am 8. Tage	am 13. Tage	
Ohne Flagellaten:			
1.	24 400 000	15 930 000	vorhanden
2.	32 000 000	31 000 000	vorhanden
Mit Flagellaten:			
1.	1 200 000	246 000	vorhanden
2.	16 500 000	640 000	vorhanden

Versuch VI am 10. VII. 1906. In 50 Reagensgläser kamen je 10 ccm Leitungswasser. Typhusbazillen wurden nicht zugesetzt. Bei täglicher Untersuchung im Laufe von 9 Tagen wurden Flagellaten in geringer Anzahl in 5 Reagensgläsern, Infusorien in 1 gefunden. Die Zahl der Bakterien betrug im frischen Wasser 40 in 1 ccm, am 9. Tage 710 000.

Versuch VII am 20. VI. 1906. 5 Kolben mit je 100 ccm Leitungswasser. In den 1. Kolben wurde eine Öse Typhusagarkultur, in den 2. 0,1 Öse, in den 3. 0,01, in den 4. 0,001 und in den 5. 0,0001 Öse derselben Kultur hinzugefügt. Flagellaten wurden nur in den ersten 3 Kolben gefunden. Nach 10 Tagen wurden Typhusbazillen in allen Kolben aufser dem 1. nachgewiesen. Das bedeutet also, dafs die Typhusbazillen zu allererst in dem Kolben verschwunden sind, in welchen sie in gröfster Menge hinzugefügt wurden.

Auf Grund unserer Versuche können folgende Schlüsse gezogen werden:

1. Flagellaten sind sowohl im Münchner Leitungswasser als auch im Wasser der Isar vorhanden. Aufser den Flagellaten befinden sich in beiden Wasserarten auch Infusorien.
2. Die Flagellaten spielen zweifellos eine nicht unbedeutende Rolle bei der Vernichtung der Bakterien und darunter auch der Typhusbazillen im Wasser, wie dies zuerst von Emmerich festgestellt wurde.

Soweit können wir die Beobachtungen von Emmerich, Gemünd und Huntemüller bestätigen. Wir können jedoch, wie Fehrs, mit ihnen darin nicht übereinstimmen, dafs es ihnen damit gelungen sei, die Unmöglichkeit der Verbreitung von Typhus und Cholera durch Wasser zu

beweisen. Dazu scheint uns schon die Zahl der Flagellaten in manchen Wässern viel zu gering zu sein.

3. Im Münchner Leitungswasser kamen einmal nur etwa 70, ein 2. Mal nur etwa 130 Exemplare davon auf 1 l, während allerdings die Zahl der Flagellaten im Isarwasser erheblich gröfser war. Selbst in jenen Proben, in denen Flagellaten vorhanden sind, kann es trotz günstiger Temperatur und reichlichem Futter 4 und 6 Tage dauern, bis sich die Flagellaten so reichlich vermehrt haben, dafs sie mikroskopisch leicht nachgewiesen werden konnten.
4. Die Typhusbazillen verschwinden aus dem Wasser schneller, wenn sie in grofser Menge eingetragen worden sind, als wenn sie, wie dies natürlichen Verhältnissen entspricht, in verhältnismäfsig geringer Anzahl dem Wasser hinzugefügt wurden. Es hängt dies offenbar damit zusammen, dafs im letzteren Falle die Flagellaten sich viel langsamer vermehren.
5. Die im Wasser verimpften Typhusbazillen bleiben zum Teile 8 und 15 Tage und wahrscheinlich noch länger am Leben, trotz der Anwesenheit zahlreicher Flagellaten.

Selbst solches Wasser, welches zahlreiche Flagellaten enthält, darf folglich sogar noch zwei Wochen nach der Infizierung mit Typhusbazillen nicht als unschädlich betrachtet werden.

Über die Bestimmung der Härte des Wassers.

Von

Dr. **P. Nawiasky** und Dr. **S. Korschun.**

Berlin. Charkow.

(Aus den Hygienischen Instituten der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Die Untersuchung der Härte des Wassers ist häufig nur unvollkommen ausgeführt worden, obschon die genauere Untersuchung vom hygienischen Standpunkte aus sehr wesentlich sein kann. Sehr häufig ist die alte Clarksche Seifenmethode das einzige angewandte Verfahren, obwohl schon längst bekannt ist, dafs die damit gewonnenen Resultate gar nicht so selten ganz unbrauchbar sein können.

Abgesehen hiervon mufs man aber beanstanden, dafs die so nötige Unterscheidung zwischen transitorischer und permanenter Härte nicht gemacht wurde. Die praktische Bewertung des Wassers, speziell für Trink- und Nutzzwecke, sollte sich doch stets auf die Kenntnis dieser beiden wichtigen Unterschiede stützen.

Sehr häufig wird von den härtegebenden Substanzen nur der Kalk angeführt, während die Feststellung der Magnesia zu den Seltenheiten gehört. Gerade mit Rücksicht auf das Vorkommen der letzteren in verschmutztem Grundwasser, ferner im Flufswasser, das durch die Abgänge von Fabrikwässern verunreinigt ist, müfste der Nachweis derselben oft erwünscht er-

scheinen. Der Grund für die Nichtbeachtung der Magnesia liegt in der Schwierigkeit der bisherigen Methoden, welche eine gewichtsanalytische Bestimmung nicht haben umgehen lassen.

Verbesserungen der Härtebestimmung des Wassers können daher vollen Anspruch darauf erheben, für die Untersuchung des Wassers von hohem Werte zu sein und füllen eine wichtige Lücke unserer bisherigen Arbeitsverfahren aus.

Wir haben daher eine Reihe neuer Wasseruntersuchungsmethoden, welche zum Teil bereits Eingang in die Industrie gefunden haben, einer eingehenden Nachprüfung unterzogen, und zwar, wie wir gleich vorausschicken können, mit durchaus günstigem Erfolge, so dafs man wohl berechtigt sein dürfte, mit der althergebrachten ungenügenden Methode zu brechen.

Das Wasser zur Ausführung der Analysen stellten wir aus titriertem Kalkwasser und Normal-Salzsäure sowie gewogenen Mengen schwefelsaurer Magnesia her. Der Überschufs an Kalkwasser wurde durch Übersättigen mit Kohlensäure in Bikarbonat übergeführt.

a) Bestimmung der transitorischen Härte.

Zur Bestimmung der transitorischen Härte hat Pfeiffer[1]) eine Methode genauer beschrieben, deren Grundlagen er von Wartha[2]) übernommen hat. Er benutzt die Eigenschaft der Bikarbonate der alkalischen Erden, auf Alizarin alkalisch zu reagieren.

100 ccm Wasser werden in einer Porzellanschale, mit Alizarin als Indikator versetzt (0,25proz. alkoholische Lösung), kochend mit $^{1}/_{10}$ Normal-Salzsäure titriert, bis die zwiebelrote Farbe in Gelb umschlägt und auch nach anhaltendem Kochen nicht wiederkehrt. Da jedem ccm $^{1}/_{10}$ Normal-Salzsäure 2,8 mg CaO entsprechen, so ergibt die verbrauchte Zahl Kubikzentimeter, multipliziert mit 2,8 die Alkalinität oder transitorische Härte des Wassers in deutschen Härtegraden.

1) Pfeiffer, Zeitschr. f. angew. Chemie, XV, 178.
2) Wartha, az ivoviz vizsgaláta, Budapest 1902.

Verwendet man statt der Porzellanschale Gefäfse aus gewöhnlichem Glas, so findet man die transitorische Härte infolge der Löslichkeit des Glases etwas zu hoch[1]), wie aus den unten angeführten Analysen zu ersehen ist.

b) Bestimmung der Gesamthärte.

Im Anschlufs an die Bestimmung der transitorischen Härte führt man nach Pfeiffer die Bestimmung der Gesamthärte aus.

Das, wie beschrieben, neutralisierte Wasser wird mit einem Überschufs einer Lösung, bestehend aus gleichen Teilen $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge und $^1/_{10}$ Normal-Sodalösung, versetzt, einige Minuten gekocht, in einen 200 ccm-Kolben gespült, nach dem Abkühlen mit destilliertem Wasser auf 200 ccm aufgefüllt, filtriert und in 100 ccm des Filtrats das überschüssige Alkali durch Titration mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure und Methylorange als Indikator bestimmt. Der auf die Gesamtmenge berechnete Verlust an $^1/_{10}$ Normal-Alkali in ccm, multipliziert mit 2,8, ergibt die Gesamthärte.

Man verwendet etwa so viele Kubikzentimeter des Alkaligemisches, als der Gesamthärte in deutschen Härtegraden entspricht; beträgt dieselbe über 50, so wird das Wasser mit destilliertem Wasser auf die Hälfte verdünnt. Nachstehende Analysen, welche nach diesen Angaben ausgeführt sind, mögen die Brauchbarkeit der Methode bestätigen (Tab. I, S. 351).

c) Bestimmung der Magnesia.

Um den Anteil der Magnesia an der Gesamthärte zu finden, kann man den Kalk nach Mohr bestimmen und den erhaltenen Wert von der Gesamthärte abziehen oder nach Pfeiffer, aus, wie beschrieben, neutralisiertem Wasser durch Zusatz überschüssigen titrierten Kalkwassers die Magnesia ausfällen und nach dem Abfiltrieren aus dem Verlust an Kalk die Magnesia berechnen.

1) Prokter, Chemikerztg. 27, 1277.

Tabelle I. (In deutschen Härtegraden.)

Angewandt:				Gefunden:			
transit. Härte	CaO	MgO	Gesamt-härte	transit. Härte	Fehler	Gesamt-härte	Fehler
—	0	14,0	14,0	—	—	13,6	— 0,4
—	2,5	28,0	30,5	—	—	30,0	— 0,5
5,0	5,0	3,0	8,0	5,2	+ 0,2	8,0	0
				5,3	+ 0,3	8,0	0
				5,5	+ 0,5	8,0	0
9,2	9,2	5,2	14,4	9,5	+ 0,3	14,7	+ 0,3
				9,9	+ 0,7	14,7	+ 0,3
				9,5	+ 0,3	13,9	— 0,5
6,1	12,3	56,0	68,3	6,6	+ 0,5	68,7	+ 0,4
				6,6	+ 0,5	69,1	+ 0,8
—	15,0	0	15,0	—	—	14,0	— 1,0
						14,4	— 0,6
—	19,2	2,8	22,0	—	—	21,6	— 0,4
						21,3	— 0,7
—	19,2	28,0	47,2	—	—	46,3	— 0,9
						46,3	— 0,9
12,3	24,6	10,0	34,6	13,2	+ 0,9	34,9	+ 0,3
				—	—	33,7	— 0,9
12,5	37,4	5,0	42,4	14,3	+ 1,8	42,6	+ 0,2
				13,7	+ 1,3	43,6	+ 1,2

Weniger genaue, jedoch für die meisten Zwecke ausreichende Werte kann man im Anschlufs an die Bestimmung der Gesamthärte nach folgendem Prinzip erhalten. Bei Anwesenheit eines Überschusses von Natronlauge und Soda werden Magnesiumsalze als Magnesiumhydroxyd, Kalksalze als kohlensaurer Kalk gefällt, während eine äquivalente Menge Natronlauge bzw. Soda aus der Lösung verschwindet. Bestimmt man daher vor dem Zusatze und nach der Fällung den Gehalt des Alkaligemisches an Natronlauge, so zeigt der Verlust an letzterer die Menge der vorhandenen Magnesia an. Da Absorption von Kohlensäure den Gehalt des Alkaligemisches an Natronlauge verändert, ist auf möglichstes Fernhalten atmosphärischer Kohlensäure besonderes Gewicht zu legen.

Nach Pfeiffer bestimmt man bei der Titerstellung des Alkaligemisches durch gleichzeitigen Zusatz von Phenolphthalein und Methylorange den Gehalt an Natronlauge. Es verhält sich nämlich die Soda gegenüber Phenolphthalein wie ein Gemisch aus

gleichen Teilen Ätznatron und Natriumbikarbonat, von denen letzteres Phenolphthalein nicht rot färbt.

100 ccm Wasser werden, wie beschrieben, neutralisiert, sodann noch heifs in einen 200 ccm-Mefskolben übergeführt, ein Überschufs des Alkaligemisches hinzugefügt, dessen Gehalt an Natronlauge vorher durch Titrieren unter Zusatz von Phenolphthalein und Methylorange festgestellt ist. Nach kurzem Stehen wird ohne nochmaliges Aufkochen mit kohlensäurefreiem destillierten Wasser auf 200 ccm aufgefüllt, durch ein schnelllaufendes Filter in einen 100 ccm-Mefskolben filtriert und der Gehalt an Natronlauge und Soda in 100 ccm des Filtrats bestimmt.

Der Verlust an Natronlauge, multipliziert mit 2,8, entspricht dem Werte der Magnesia in deutschen Härtegraden, in gleicher Weise der Verlust an Soda dem Gehalt an Kalk. Einige Analysen mögen zeigen, welcher Grad der Genauigkeit bei dieser Methode zu erwarten ist (Tab. II, S. 353).

Genauer ist eine Modifikation der Methode von Monhaupt[1]), der vor dem Zusatz des Alkaligemisches den Kalk durch Hinzufügen von neutralem Kaliumoxalat entfernt. Der Verlust an Phenolphthalein rötendem Alkali, multipliziert mit 2,8, ergibt hierbei den Wert für Magnesia (Tab. III, S. 353).

Die Rotfärbung des Phenolphthaleins bei der Titerstellung des Alkaligemisches verschwindet nur allmählich, und der Umschlag ist nicht leicht zu erkennen. Um diesen Übelstand zu vermeiden, kann man bei der Titerstellung das Alkaligemisch jedesmal in 30 ccm einer 10 proz. Baryumchloridlösung einfliefsen lassen, der einige Tropfen Phenolphthalein zugesetzt sind, und den Gehalt an Natronlauge durch schnelles Titrieren mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure bestimmen. Der Umschlag ist hierbei scharf, nachträglich eintretende Rötung wird vernachlässigt. Wir haben die folgenden Analysen in dieser Weise, im übrigen nach Pfeiffer, ausgeführt und sind der Ansicht, dafs dieses Verfahren in der Praxis wohl verwendbar ist. (Tab. IV, S. 354.)

1) Monhaupt (Chemikerztg. 27, 501) bestimmt die transitorische Härte durch Titrieren in der Kälte mit Methylorange statt Alizarin und kocht dann eine halbe Stunde zur Vertreibung der Kohlensäure. Er findet die Magnesia um 0,3 Härtegrade zu hoch.

Tabelle II.
(In deutschen Härtegraden.)

Angewandt: CaO	Angewandt: MgO	Gefunden: CaO	Fehler	Gefunden: MgO	Fehler
0	14,0	0	0	12,6	— 1,4
		0	0	13,6	— 0,4
2,5	28,0	0,3	— 2,2	28,0	0
		0,6	— 1,9	26,4	— 1,6
3,0	9,7	0	— 3,0	11,2	+ 1,5
		0	— 3,0	10,0	+ 0,3
5,0	9,0	2,4	— 2,6	8,1	+ 1,1
		1,8	— 3,2	8,7	+ 1,7
5,0	14,0	4,6	— 0,4	14,8	+ 0,8
		4,8	— 0,2	14,6	+ 0,6
6,0	19,4	4,2	— 1,8	20,3	+ 0,9
		6,4	+ 0,4	21,1	+ 1,7
12,3	5,0	10,6	— 1,7	5,4	+ 0,4
		8,4	— 3,9	7,4	+ 2,4
12,3	10,0	10,1	— 2,2	11,2	+ 1,2
		10,6	— 1,7	10,4	+ 0,4
12,3	56,0	13,2	+ 0,9	55,9	— 0,1
		15,4	+ 2,1	53,3	— 2,7
15,0	0	11,6	— 3,4	2,8	+ 2,8
		12,2	— 2,8	1,5	+ 1,5
20,0	7,0	17,8	— 2,2	8,2	+ 1,2
		17,8	— 2,2	7,8	+ 0,8
24,6	10,0	23,8	— 0,8	11,1	+ 1,1
		23,8	— 0,8	9,9	— 0,1
24,6	20,0	25,8	+ 1,2	20,0	0
		25,8	+ 1,2	19,6	— 0,4

Tabelle III.
(Monhaupt. In deutschen Härtegraden.)

Angewandt: CaO	Angewandt: MgO	Gefunden: MgO	Fehler
2,5	7,0	6,6	— 0,4
		6,8	— 0,2
2,5	28,0	26,9	— 1,1
		27,7	— 0,3
10,0	14,0	14,4	+ 0,4
		14,3	+ 0,3

Angewandt: CaO	Angewandt: MgO	Gefunden: MgO	Fehler
19,2	2,8	2,7	— 0,1
		2,4	— 0,4
		2,6	— 0,2
19,2	28,0	27,9	— 0,1
		27,0	— 1,0

Tabelle IV.
(In deutschen Härtegraden.)

Angewandt:		Gefunden:		Angewandt:		Gefunden:	
CaO	MgO	MgO	Fehler	CaO	MgO	MgO	Fehler
0	14,0	13,6	− 0,4	12,3	5,0	4,6	− 0,4
		13,6	− 0,4			5,0	0
2,5	28,0	27,7	− 0,3	12,3	10,0	9,8	− 0,2
		27,7	− 0,3			9,4	− 0,6
3,0	9,7	9,6	− 0,1	15,0	0	1,5	+ 1,5
		9,6	− 0,1			2,0	+ 2,0
5,0	2,1	2,2	+ 0,1	19,5	28,0	30	+ 2,0
		3,0	+ 0,9	20,0	3,5	3,9	+ 0,4
5,0	7,0	8,4	+ 1,4			2,8	− 0,7
		8,1	+ 1,1	20,0	7,0	7,8	+ 0,8
5,0	14,0	14,5	+ 0,5			7,0	0
		14,0	+ 0,0	24,6	10,0	10,6	+ 0,6
9,2	3,7	4,0	+ 0,3			12,4	+ 2,4
		4,2	+ 0,5	24,6	20,0	19,6	− 0,4
						18,8	− 1,2

Die vorliegenden Untersuchungen haben, wie wir glauben, dargetan, dafs die Analyse der Härteeigenschaften des Wassers durch die neuen Methoden wesentlich an Genauigkeit gewonnen hat und durch die direkte Bestimmung der Magnesia zugleich an Vollständigkeit und allgemeiner Verwendbarkeit.

Zum Schlusse ist es uns eine angenehme Pflicht, unsrem hochverehrten Chef, Herrn Geheimen Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner für die gütige Anregung zu vorliegender Arbeit aufrichtig Dank zu sagen.

Über den Einflufs erhöhter Aufsentemperatur auf den Verlauf der experimentellen Tetanus- und Streptokokkeninfektion.

Von

Otto Ritzmann, med. pract.,

gewesenem Assistenten am Institut, zurzeit Assistenzarzt am Kantonspital Glarus.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Instituts der Universität Zürich. Vorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.)

Die neuere experimentelle Bakteriologie begnügt sich nicht mehr mit dem Nachweis der Krankheitserreger allein, sie verfolgt den weiteren Zweck möglichst alle die Ursachen festzustellen, welche die Entstehung von Infektionskrankheiten beeinflussen, sei es, dafs sie sie begünstigen, sei es, dafs sie sie erschweren. Die eminent wichtige Frage, der Disposition und Resistenz ist zum Gegenstand der experimentell bakteriologischen Studien geworden*).

Unter den die Entstehung von Infektionskrankheiten beeinflufsenden Umständen fand schon in der vorbakteriologischen Zeit in erster Linie die Temperatur Berücksichtigung und zwar wurde sowohl die erhöhte als auch die niedrige Temperatur nach ihrer Einwirkung auf die Entstehung und den Verlauf der Infektionskrankheiten hin geprüft. In Bezug auf die Temperaturherabsetzung brauchen wir nur an die verschiedenen Erkältungskrankheiten zu erinnern. Anderseits gab das Studium des Fiebers Veranlassung zur Erforschung des Einflufses der Temperaturerhöhung auf den Infektionsprozefs.

*) Eine wertvolle Zusammenstellung der Literatur, welche sich auf die experimentellen Forschungen über Disposition und Resistenz bezieht, gibt uns Trommsdorff([1]), sie hat uns unsere nachfolgende Literaturübersicht wesentlich erleichtert.

Der **Milzbrand** ist diejenige Infektionskrankheit, die auch nach dieser Richtung am eingehendsten erforscht wurde.

Pasteur und Joubert(2) haben 1878 in ihren klassischen Versuchen als erste Hühnern die durch die hohe Körpertemperatur bedingte natürliche Immunität gegen Milzbrand genommen, indem sie die Körpertemperatur künstlich auf 34° erniedrigten. Sie erreichten dies durch Eintauchen von Hühnern in 25° warmes Wasser. Ihre Resultate wurden durch Wagner(3) bestätigt, der auch auf die fast völlig aufgehobene Phagocytose der so behandelten Tiere hinwies; er erhielt übrigens das gleiche Ergebnis, wenn er die Herabsetzung der Temperatur durch Antipyrin herbeiführte. Auch Trapeznikoff(4) beseitigte die Resistenz gegen Milzbrand, indem er die Körpertemperatur der immunen Tiere erniedrigte, während Lode(5) durch sonst nicht tötliche Dosen von Milzbrand entfiederte Hühner und geschorene Ratten, die einem starken Luftzug ausgesetzt waren, tötete. Auch Meerschweinchen machte er durch dieses Verfahren für verschiedene Infektionen empfänglich. Dafs Sawtschenko(6) Tauben, denen er, um eine Temperaturerniedrigung zu erzielen, das Halsmark durchschnitt, durch Milzbrand tötete, darf wohl nicht nur der erreichten tieferen Körpertemperatur zugeschrieben werden, sondern auch dem Eingriff.

Ganz ähnlich wie bei den erwähnten Arbeiten mit Milzbrand ging P. Ernst(7) bei Versuchen mit Bacillus ranicida vor. Dieser tötet normalerweise nur Frühjahrsfrösche nicht aber Sommerfrösche. Letztere erlagen aber der Infektion, wenn sie auf 10° abgekühlt wurden.

Bei den oben erwähnten Arbeiten gelang es durch Temperaturherabsetzung bei Warmblütern die natürliche Immunität zu beheben; umgekehrt hat zuerst Gibier(8) bei Kaltblütern, die dank ihrer niederen Temperatur gegen Milzbrand resistent sind, durch Erhöhung der Körperwärme die Infektion zustande gebracht. Nach ihm gelang dies einer ganzen Anzahl von Autoren, die wie er, ebenfalls an Fröschen arbeiteten, so Metschnikoff(9), Petruschky(10), Lubarsch(11), Nutall(12), Fahrenholz(13), Voswinkel(14), Trapeznikoff (l. c.) In neuerer Zeit erreichte Lode (l. c.) dasselbe an Schnecken.

Die Immunität gewisser Warm- und Kaltblüter beruht also darauf, dafs ihre Körpertemperatur für Milzbrandbazillen ungeeignet ist, sie fällt dahin, sowie es gelingt die Temperatur so zu verändern, dafs die Milzbrandbazillen in ihr gedeihen können. Dieudonné(15) zeigte, dafs wir dasselbe auch auf anderem Wege erreichen können, indem wir nämlich nicht die Temperatur der immunen Tiere beeinflussen, sondern die Milzbrandbazillen an die ihnen zunächst ungünstige Temperatur gewöhnen. Indem er diesen Mikroorganismus an die niedere Körperwärme der Kaltblüter anpafste, gelang ihm die Infektion normal temperierter Frösche. Anderseits machte er den Milzbrandbazillus virulent für Tauben, indem er ihn bei 42° züchtete. Daraus dürfen wir den Schlufs ziehen, dafs das Zustandekommen der Infektion bei jenen natürlich immunen Tieren nicht der Schädigung des Organismus durch die veränderte Temperatur zuzuschreiben ist, sondern auf Seiten der Bazillen liegt, die den Körper infizieren, sobald dessen Temperatur ihnen oder sie dieser Temperatur angepafst sind.

Eine zweite Infektionskrankheit, die ebenfalls recht eingehend in dieser Richtung studiert wurde, ist die **Pneumokokkeninfektion.**

Lipari(16) wies zuerst nach, dafs Abkühlung das Zustandekommen dieser Infektion fördert, dasselbe fand Platania(17) in seinen Versuchen an Meerschweinchen und Hunden. Walther(18), der umgekehrt den Einflufs der erhöhten Temperatur auf die Pneumokokkeninfektion prüfte, bekam indirekt ein gleiches Resultat. Die Zahl seiner Versuche ist allerdings sehr klein (5 resp. 3 Kaninchen). Dürck(19) bestätigt den die Pneumokokkeninfektion begünstigenden Einflufs der Abkühlung. Rovighis(20) Versuche — er arbeitete mit menschlichem Speichel — ergaben, dafs Abkühlung die Lebensdauer infizierter Kaninchen verkürzt, Erwärmung verlängert. Turteltauben vertragen die Speichelinjektion gut dank ihrer Körpertemperatur von 42°, abgekühlt jedoch erliegen sie der Infektion. Löwy und Richter(21) fanden, dafs die durch den Koch-Aronsonschen Hirnstich erzielte Steigerung der Körpertemperatur bei Kaninchen den Verlauf der Pneumokokkeninfektion verzögert. Keines ihrer gestochenen

Versuchstiere, selbst wenn es exzessiv hohe Körpertemperaturen erreichte (über 42°), starb früher als die Kontrolltiere, dagegen zeigten fast alle Lebensverlängerung. Ein gleiches Resultat ergaben ihre Versuche mit Hühnercholera- und Schweinerotlaufbazillen, ebenso mit Diphtherietoxin. Dafs diese Autoren ferner bei Kaninchen, deren Temperatur sie durch Aufstrich von Kairin und Guajacol herabsetzten, die Pneumokokkeninfektion beschleunigten, führen wir mit Reserve an, da die angewandten Mittel für sich allein schon giftig sind. Endlich stellte Fischl(22) nach Pneumokokkeninjektion bei Kaninchen, die er um etwa 10° abkühlte, tötlich verlaufende Septicämie fest.

Die Versuche mit Pneumokokken sind also in ihrem Ergebnis ebenfalls übereinstimmend: Temperaturerhöhung verzögert, Temperaturerniedrigung beschleunigt diese Infektion.

Mit **Staphylokokken** haben zwei Autoren gearbeitet, ihre Resultate widersprechen sich. Pawlowsky(23) prüfte den Einflufs der Abkühlung an Meerschweinchen und fand, dafs die der niederen Temperatur ausgesetzten Tiere ganz unbedeutend länger leben wie die Kontrolltiere. Engelhardt(24) steigerte bei Kaninchen durch Hirnstich die Temperatur und impfte sie dann intravenös oder intraperitoneal mit Staphylokokken. Der Wärmestich beeinflufst den Verlauf der Staphylomykose in günstigem (lebensverlängerndem) Sinn. Der günstige Einflufs ist weit ausgesprochener bei intravenöser als bei intraperitonealer Infektion. Der durch den Wärmestich verliehene Schutz bedeutet in den meisten Fällen nur eine Lebensverlängerung.

Fermi und Salsano(25) prüften in ihrer Arbeit über die Prädilektion für **Tuberkulose** den Einflufs der erhöhten Temperatur bei mit Geflügel- und Menschentuberkulose geimpften Mäusen und Meerschweinchen. Sie fanden, dafs durch eine mehrwöchentliche Temperaturerhöhung bis 33—35°, insbesondere wenn die Luft mit Feuchtigkeit gesättigt ist (ferner durch Injektion von Traubenzucker und Milchsäure), Meerschweinchen und Mäuse für die Geflügeltuberkulose, letztere auch für die Tuberkulose der Säugetiere empfänglich — prädisponiert — gemacht werden können. Hühnertuberkulose zu wiederholten Malen prädis-

ponierten Meerschweinchen eingeimpft, kann für diese Tiere mit der Zeit virulent werden.

Graziani(26) untersuchte den Einflufs der Temperatur auf die Produktion der Agglutinine bei **Typhus**. Die mit Typhuskulturen vorbehandelten Tiere lieferten ein stärker agglutinierendes Serum, wenn sie bei niederer Temperatur (+ 2 bis 4°) gehalten wurden als bei höherer (+ 18°); eine noch höhere Temperatur (+ 32°) bedingte eine weitere Verminderung der agglutinierenden Eigenschaft ihres Blutserums. Wie die Abkühlung, bewirkt auch das wiederholte kalte Bad eine gesteigerte Agglutininproduktion.

Wyssokowitsch(27) gelang es durch künstliche Herabsetzung der Energie der Körperzellen, Bakterien, welche unter gewöhnlichen Verhältnissen für die benützten Versuchstiere nicht pathogen sind, zu starker Vermehrung und zu einer Invasion des ganzen lebenden Körpers zu bringen. Eine solche Schwächung des Körpers resultierte beispielsweise durch Anwendung hoher, der Körperwärme naheliegender Temperatur, durch welche der Stoffwechselumsatz möglichst herabgedrückt war. Wyssokowitsch fand also eine Begünstigung der Infektion durch hohe Aufsentemperatur.

Ferner konstatierte Filehne(28) einen günstigen Einflufs erhöhter Aufsentemperatur und einen ungünstigen der Abkühlung auf den Verlauf des Erysipels am Kaninchenrohr.

Der **Tetanus** ist wie die Milzbrand- und Pneumokokkeninfektion schon wiederholt auf die Beeinflussung durch veränderte Temperatur geprüft worden.

Vaillard und Vincent(29) haben uns in ihren Arbeiten über die Ätiologie des Tetanus genauer mit den Hilfsursachen im allgemeinen bekannt gemacht, die den Ausbruch des Tetanus fördern. Es sind dies:

1. Mischinfektion, das praktisch wichtigste den Tetanus begünstigende Moment. Doch scheinen nach diesen Autoren gerade die pathogenen Staphylo- und Streptokokken für eine wirksame Symbiose nicht besonders geeignet. Vaillard und Vincent fanden nur von Prodigiosus eine ausgesprochene Begünstigung der Tetanus-

infektion, während diese bei Bact. Friedländer, Staphylokokkus pyogenes aureus, Streptokokken und Bac. subtilis nicht auffiel.

2. Mechanische Gewebsläsion, wie Quetschung, Zerreifsung von Weichteilen, Hämorrhagien, Nekrosen, Knochenbrüche.
3. Chemische Läsion mit Milchsäure, Trimethylamin u. a. und
4. Bakterielle Toxinwirkung.

Vaillard und Vincent erbrachten in einer Reihe sehr schöner Versuche den Nachweis, dafs Tetanusbazillen allein in der Regel nicht ausreichen für die Erzeugung des Tetanus, und dafs sie ohne Wirkung bleiben, wenn die Toxinbildung verhindert wird, oder wenn das Toxin in den injizierten Kulturen zerstört worden ist. Nach der Injektion von toxinfreien Sporen kommt es nur dann zu Tetanus, wenn durch Verhinderung der Phagocytose die injizierten Sporen sich entwickeln und auskeimen können: die schädliche Wirkung des Tetanusbazillus beruht auf der Bildung des auch in minimalsten Mengen sehr wirksamen Toxins.

Die Bedeutung der Phagocytose im Kampfe gegen den Tetanus haben Vaillard, Vincent und Rouget wiederholt nachgewiesen. So kommt es z. B. zu Tetanus, wenn die Sporen nicht frei injiziert werden, sondern in Papier eingehüllt vor der Phagocytose geschützt werden, oder wenn man die Leucocyten durch jene chemischen Gifte wie Milchsäure oder Trimethylamin fernhält, oder sie sich endlich mit pulverisierter Holzkohle, die man injizierte, beladen läfst.

Wie aus späteren Versuchen von Vaillard und Rouget([30]) hervorgeht, wird die völlige Vernichtung des Toxins erst erreicht bei längerer Einwirkung hoher Temperaturen. Eine kurz dauernde Erhitzung auf 60, 80 sogar 90° ist nicht imstande das Toxin völlig zu zerstören, erst bei zwei- bis dreistündiger Erwärmung auf 85° ist dies der Fall.

Den sogenannten Spontantetanus, bei welchem keine Eingangspforte gefunden werden kann, erklären diese Autoren durch

die Annahme, dafs eine minimale Kontinuitätstrennung zur Infektion genüge, oder dafs die infizierte Wunde bereits wieder vernarbt sei.

Aus einer Arbeit von Vaillard(31) über Immunisation gegen Tetanus geht die Bedeutung der Leucocyten im Kampfe gegen Tetanus sehr hübsch aus folgendem hervor: Einem hoch immunisierten Tiere werden Sporen in einem Fliefspapiersäckchen eingehüllt, eingeführt; sie sind also wohl den Säften des immunisierten Organismus zugänglich, dennoch wachsen sie doch gut aus, weil die Leucocyten nicht ankommen können.

Wir gelangen zu den Arbeiten, die sich mit dem **Einfluß der Temperatur auf Tetanus** beschäftigen.

In einer seiner letzten Arbeiten hat sich Vincent(32) mit dem Einflufs erhöhter Aufsentemperatur auf den Verlauf des Tetanus beschäftigt. Er wurde zu seinen Versuchen angeregt durch einen Fall bei einem Soldaten, der sieben Stunden nach einem strengen Marsch in der Sonnenhitze mit nachfolgendem Sonnenstich an Tetanus schwer erkrankte. Vincent prüfte hierauf den Einflufs der erhöhten Aufsentemperatur auf den Verlauf der Infektion mit toxinfreien Tetanussporen bei Meerschweinchen. In jedem Versuche wurde das eine Tier in einem Brutschrank von 40° aufbewahrt bis seine Körpertemperatur auf ca. 42,5° gestiegen war, dann wurden beide Tiere bei gewöhnlicher Temperatur weiter beobachtet. Die nicht erhitzten Kontrolltiere blieben gesund, die nur kurze Zeit im Brutschrank aufbewahrten erkrankten nach drei bis elf Tagen an schwerem, foudroyanten Tetanus.

In gleicher Weise werden Tiere mit leichtem, heilbaren Tetanus bei Verbringen in den Brutschrank beeinflufst, der Tetanus wird akut und sie erliegen ihm in 12 bis 24 Stunden.

Der Tetanus bricht ebenfalls aus, wenn man zwischen Impfung und Erwärmen einige Tage verstreichen läfst. Ist die Frist gröfser, so verläuft der Tetanus weniger akut und tritt später ein. Die Frist zwischen Impfung und Brutschrank kann immerhin, wenn auch ausnahmsweise, 30 bis 60 Tage betragen. Ein Tier, das z. B. erst 48 Tage nach der Infektion in den

Thermostaten kommt, zeigt nach weiteren 15 Tagen tötlichen Tetanus; ein anderes 60 Tage nach der Impfung erwärmt, hat 19 Tage später etwas tetanische Steifigkeit. Der Tetanusbazillus erhält sich lange Zeit in latenter Form im Organismus. Vincent hatte allerdings auch bei Tieren, die schon 30 bis 15 Tage nach der Injektion erhitzt wurden, negative Resultate. Stets ist eine Inkubationszeit vom Erhitzen bis zum Ausbruch des Tetanus von im Mittel zwei bis drei Tagen nötig. Der Sektionsbefund ist ohne Bedeutung bis auf eine starke Leucopenie. Umso bedeutungsvoller ist der bakteriologische Befund: Während es für gewöhnlich nur an der Injektionsstelle, und meist nur kulturell gelingt Tetanusbazillen nachzuweisen, verliert unter dem Einflufs der Hyperthermie der Tetanus seinen Charakter als strenge Lokalinfektion völlig, er wird zur ausgedehnten Allgemeininfektion. Bei den dem stürmischen Tetanus erlegenen Tieren hat sich der Bazillus im ganzen Körper verbreitet und so zu einer förmlichen Tetanusseptikämie geführt. Die Hitze ist also ein das Auftreten des Tetanus wesentlich förderndes Moment. Infolge der künstlichen Temperaturerhöhung sind die Schutzkräfte des Körpers geschwächt und der Tetanusbazillus in den Stand gesetzt, seine schädliche Wirkung zu entfalten. Im Gegensatz zu dem bei der Milzbrandinfektion Gesagten sind also die Verhältnisse nicht für den Bazillus bessere, nur die Abwehrkräfte des Organismus werden gelähmt. Diese werden vor allem repräsentiert durch die Leucocyten, die durch die Erwärmung der Tiere auf über 42,5° sich von 8—10000 auf 2—3000 vermindern. Wie die zahlreichen Degenerationsformen schliefsen lassen, sind die verschwundenen Leucocyten durch Cytolyse zugrunde gegangen. Diese Leucolyse geschieht namentlich auf Kosten der Phagocyten (die normalerweise die Sporen fressen würden), nämlich der polynukleären (Mikrophagen) und der grofsen mononucleären (Makrophagen).

Die Versuche von Courmont und Doyon[33] wurden nicht mit Tetanussporen, sondern mit Tetanustoxin an unter verschiedenen Temperaturen (—37° —25° —18° —10°) gehaltenen

Fröschen ausgeführt. Es zeigte sich, dafs Frösche, die bei 20° oder darunter gehalten werden, refraktär sind gegen Dosen von Tetanustoxin, die solche bei höherer Temperatur tetanisieren. Wenn mehrere Monate bei niederer Temperatur gehaltene Frösche später der Wärme ausgesetzt werden, so werden sie in der gleichen Zeit tetanisch, wie wenn sie mit dem Verbringen in den Brutschrank geimpft worden wären.

Thalmann[34] hat in seiner Arbeit über die Ätiologie des Tetanus den Einflufs der Erkältung auf Eintritt und Verlauf des Tetanus geprüft. Er fand, dafs bei niedriger Temperatur aufbewahrte und mit kaltem Wasser abgekühlte Meerschweinchen nicht an Tetanus erkranken, während die Kontrolltiere tetanische Symptome zeigen.

Die verschiedenen erwähnten Arbeiten über den Einflufs hoher und niederer Temperaturen auf Tetanus lassen den einen gemeinsamen Schlufs zu: die Temperaturerhöhung begünstigt sowohl die Entstehung der Tetanusinfektion als auch die Wirkung des Tetanustoxins.

Eine sehr interessante Arbeit hat Vincent[35] über Tetanus und Chinin veröffentlicht. Es war ihm aufgefallen, dafs namentlich in den Tropen ziemlich häufig nach subkutanen Chinininjektionen Tetanus auftrat und nie nach anderen doch viel häufigeren Injektionen. Die Annahme, dafs das injizierte Chinin Tetanussporen enthalte, schien ihm wenig wahrscheinlich und in einer Reihe von Versuchen hat Vincent nachgewiesen, dafs Chinin. muriaticum viel stärker baktericid auf Tetanus wirkt als andere gebräuchliche Lösungen. Um die Bedeutung des Chinins für Tetanus nachzuweisen, hat er eine Reihe von Versuchen an Meerschweinchen vorgenommen; sie ergaben, dafs die subkutane Chinininjektion regelmäfsig einen ungünstigen Einflufs auf den Verlauf des experimentellen Tetanus ausübt. Werden Chinin und Tetanussporen gleichzeitig injiziert, so tritt stets Tetanus auf, die Sporen allein werden symptomlos ertragen. Eine ähnliche Wirkung des Chinins wurde beobachtet sowohl wenn dasselbe vor den Sporen, als wenn es nach denselben injiziert wurde. Im ersteren Falle kommt es, wenn in fünf bis sechs Tagen nach

der Chinininjektion Sporen gegeben werden, noch zu einem Tetanus. Im letzteren Falle kann eine nachträgliche Chinininjektion symptomlos ertragene Sporen zum Auskeimen und zur tötlichen Wirkung bringen. Die Ursache der schädlichen Wirkung beruht einerseits auf einer leichten lokalen Gewebsnekrose an der Injektionsstelle, andrerseits auf der Beeinflussung der Leucocyten. Nach Chinininjektion tritt regelmäfsig eine Hypoleucocytose bis auf 1/4 der Norm ein, ferner lähmt es nach Vincent die Leucocyten. Sehr wichtig erscheint uns der bakteriologische Befund bei den Tieren, bei denen die subkutane Injektion von Chinin und Sporen an verschiedenen Stellen vorgenommen wurde. Es stellte sich nämlich heraus, dafs an der Injektionsstelle der Sporen keine, dafs hingegen an der Stelle, wo die sterile Chininlösung injiziert wurde, zahlreiche Tetanusbazillen nachweisbar sind. Die Erklärung der Ansiedelung der Tetanusbazillen an der Injektionsstelle des Chinins liegt in der chemotaktisch negativen Wirkung der Chininsalze auf die Leucocyten. Gerade dieser Befund beweist übrigens, dafs auch eine bakteriologische Untersuchung in einem Fall von Tetanus nach Chinininjektion eine falsche Infektionsstelle ergeben könnte.

Vorversuche.

Angeregt durch die Veröffentlichung Vincents über die Einwirkung erhöhter Temperatur auf Tetanus haben wir in vorliegender Arbeit versucht: den Einflufs einer Temperatur von 34 bis 35° (statt 40° wie Vincent), auf mit toxinfreien Tetanussporen injizierte Tiere zu prüfen.

Wir wählten die Temperatur von 34 bis 35°, weil die Versuchstiere längere Zeit eine derartige Erwärmung ertragen, während sie bei höherer Temperatur sehr rasch zugrunde gehen. Bei 35° war die Möglichkeit vorhanden, die Tiere nicht nur ein bis zwei Stunden, sondern mehrere Tage, sogar Wochen zu beobachten. Diese Versuchsanordnung erschien uns in mancher Hinsicht für eventuelle praktische Verwertung geeigneter.

Wir stellten uns ferner zur Aufgabe, eine Infektionskrankheit im engeren Sinne in ähnlicher Weise zu studieren, indem wir die experimentelle Streptokokkeninfektion zum Gegenstand unserer Versuche mit erhöhter Aufsentemperatur machten.

Endlich untersuchten wir den Einflufs einer nachträglichen Infektion mit Streptokokken bei mit toxinfreien Tetanussporen geimpften Tieren.

Wir werden unsere Arbeit in drei Abschnitte zergliedern:

1. Versuche mit toxinfreien Tetanussporen.
2. Versuche mit Streptokokken.
3. Versuche über den Einflufs einer nachträglichen Infektion durch Streptokokken bei mit toxinfreien Tetanussporen injizierten Tieren.

Versuchsanordnung.

Bevor wir zu den einzelnen Abschnitten übergehen, sei die denselben gemeinsame Versuchsanordnung besprochen.

Die Tiere, die einer erhöhten Temperatur ausgesetzt werden sollten, wurden in einen, später in zwei auf 35° eingestellte Thermostaten verbracht. Es standen uns zwei kleinere Brutschränke zur Verfügung, die folgende Dimensionen im Innenraum aufweisen:

gröfserer Brutschrank:	Höhe 20 cm,	Breite 40 cm,	Tiefe 25 cm
kleinerer »	» 25 »	» 25 »	» 25 »

Die Schränke wurden zu den Versuchen noch speziell hergerichtet. Da die Luftzufuhr durch die vorhandenen Öffnungen allein nicht ausgereicht hätte, wurde eine konstante Aspiration durch eine Wasserstrahlpumpe vorgenommen. Diese Lufterneuerung bezweckte neben der Bekämpfung der Wärmestauung gleichzeitig eine Erniedrigung des Feuchtigkeitsgehaltes im Innern. Besonders im kleineren Brutschrank starben uns bei relativ geringen Temperaturschwankungen während der Vorversuche einige Tiere spontan (Meerschweinchen und Ratten). Es wurde daher in den kleineren Schrank eine Zeitlang die Verminderung des

Feuchtigkeitsgehaltes der Luft auch durch Einbringen einer hygroskopischen Mischung von Chlorcalcium und Natronkalk erstrebt. Doch machten wir bald die Erfahrung, dafs die Feuchtigkeit keine zu grofse wurde, wenn nicht zu viele Tiere in den Schrank verbracht wurden.

Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen, weifse Ratten und weifse Mäuse. Die meisten Versuche wurden mit letzteren Tieren ausgeführt, da unsere kleineren Schränke uns nicht gestatteten gleichzeitig mehrere gröfsere Tiere hineinzustellen. Die Ratten erwiesen sich bei unserer Versuchsanordnung als wenig geeignet und wurden daher bei den eigentlichen Versuchen nicht mehr benützt. Am wenigsten empfindlich waren weifse Mäuse; sie konnten ohne merklichen Einflufs wochen- bis monatelang bei hoher Temperatur aufbewahrt werden. Anders verhielten sich Meerschweinchen; ihnen bekam die Temperatur von 35° schon schlechter. In den ersten Tagen trat regelmäfsig eine starke Gewichtsabnahme ein. So zeigte z. B. Meerschweinchen T 5A, das bei seiner Impfung 360 g wog, nach 14 Tagen Aufbewahrung bei 35° nur noch 280 g. Das Gewicht nahm aber dann wieder zu und betrug am 37. Tag schon wieder 490 g. Meerschweinchen T 8A wog am Injektionstag 385, nach 3 Tagen 350, am 14. Tag 208 g, dann Zunahme am 20. Tag 260 etc. Dies war die bedrohlichste Gewichtsabnahme. Die Tiere, die mehrere Wochen im Brutschrank aufbewahrt wurden, gewöhnten sich an die neuen Verhältnisse und nahmen sogar an Gewicht zu.

In den weiter unten zu besprechenden Versuchen sind alle Tiere berücksichtigt. Nur zwei Meerschweinchen gingen, das eine nach wenigen Tagen, das andere etwas später wahrscheinlich an Inanition zugrunde.

I. Versuche mit toxinfreien Tetanussporen.

Die verwendete Tetanuskultur ist eine Stammkultur, die schon mehrere Jahre im Institut weiter gezüchtet worden ist. Ihre Reinheit wurde mikroskopisch und kulturell festgestellt, ebenso ihre Virulenz für unsere Versuchstiere.

Um toxinfreie Sporen zu erhalten, legten wir in grofsen, dickwandigen Röhren, die ca. 35 ccm Bouillon enthielten, anaërobe Kulturen an. Nach der Beschickung wurden die Reagenzröhren mit guten, durchlöcherten Gummipfropfen verschlossen. Dann wurden die Röhren nach Aspiration und mehrmaliger Wasserstoffdurchleitung im Vakuum zugeschmolzen. Die weiter unten mit 4, 5 und 6 bezeichneten Kulturen blieben 12 Tage, die mit 2 bezeichnete 6 Tage lang bei 37° im Thermostaten. Nach dieser Zeit wurde der reichliche Bodensatz, der sich mikroskopisch als aus Sporen bestehend erwies, in Pasteurschen Pipetten aspiriert, dieselben beidseitig zugeschmolzen und im Wasserbad zwei, Kultur 6 drei Stunden lang erhitzt. Die Temperatur betrug 83 bis 85° und wurde mit 3 Thermometern genau geprüft. Die Pipetten wurden bis zur jeweiligen Verwendung im Eisschrank aufbewahrt und die Sporen vor jedem Versuch nochmals auf Reinheit und Lebensfähigkeit geprüft durch Anlegen von aëroben und anaëroben Agarkulturen. Die Injektion wurde bei den Mäusen subkutan über der Schwanzwurzel, bei Meerschweinchen intramuskulär in den rechten Schenkel ausgeführt.

A. Die Versuche an Mäusen sind auf Tabelle I zusammengestellt. Es sei hervorgehoben, dals die injizierten Mengen der einzelnen Versuche untereinander nicht direkt vergleichbar sind, da Kulturaufschwemmung 2 sporenarm ist, 4 dagegen viel mehr Sporen enthält, fast ebensoviel 5 und 6.

Die Beobachtungszeit ist in den einzelnen Versuchen eine verschieden lange. Das rührt davon her, dafs die meisten Tiere — alle Versuchspaare, in denen keines der Tiere an Tetanus starb — später zu den weiter unten zu besprechenden Tetanus-Streptokokken-Versuchen verwendet wurden. In diesem Abschnitt wollen wir uns nur mit den Resultaten der Injektion von Tetanusreinkultur befassen.

Unter Weglassung von Versuch 15, bei dem die Beobachtungszeit von 3 Tagen zu kurz war, bleiben 20 Versuchstiere übrig, die 9 bis 40 Tage lang beobachtet wurden. Von diesen 20 Mäusen sind 4 an Tetanus erkrankt, und zwar 3 Brutschranktiere, 1 bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrtes Tier. Die Injektion von

geringen Mengen Tetanussporen (0,01; 0,05; 0,1 ccm) hatte kein Resultat, nur mit 0,25 ccm geimpfte Tiere zeigten Tetanus, nämlich 3 von 5 im Brutschrank aufbewahrten und 1 von 5 Aufsentieren. Die ersten Krankheitserscheinungen wurden bei den Brutschranktieren 4, 5 und 8 Tage nach Injektion der Tetanussporen konstatiert, bei dem Aufsentier erst nach 10 Tagen. Nur die 3 Brutschranktiere erlagen dem Tetanus, und zwar $^1/_2$, 2 $^1/_2$ und 4 Tage nach dem ersten Auftreten des Tetanus resp. 5, 7 $^1/_2$ und 12 Tage nach der Impfung.

Sehr interessant ist der Versuch Maus T 8 B. Diese einzige Maus, welche an Tetanus erkrankte ohne im Brutschrank zu verweilen, zeigte im Gegensatz zu ihrer Brutschrankmaus eine verlängerte Inkubationszeit, bei der einen 4, bei der anderen 10 Tage. Der Tetanus verlief typisch und schwer. Eigentümlich war eine seitliche Verkrümmung der Wirbelsäule, verbunden mit einem halbseitigen Tetanus links, so dafs das Tier mehrere Tage hindurch sich nur im Bogen bewegen konnte mit typisch gespreizter linker hinterer Extremität. Das Tier erholte sich aber und zeigte am 27. Tage, d. h. 17 Tage nach Beginn der Tetanussymptome keine Krankheitserscheinungen mehr. Es wurde von da an bei 35° im Brutschrank aufbewahrt, erkrankte aber in den 20 weiteren Tagen, in denen es noch beobachtet wurde, nicht mehr an Tetanus. Dieses Beispiel eines bei der Maus nach Injektion von Tetanussporen aufgetretenen Tetanus, der in völlige Heilung überging, erschien uns einer genaueren Beschreibung wert.

Die 3 an Tetanus gestorbenen Mäuse wurden seziert und es gelang bei allen subkutan an der Injektionsstelle Tetanusbazillen kulturell nachzuweisen. Hingegen fielen die Kulturen aus dem Herzblut und der Milz (es wurde ein Stückchen Milz in verflüssigten abgekühlten Agar übertragen) negativ aus. Dieser Befund entspricht nicht dem von Vincent mitgeteilten, welcher bei seinen an Tetanus gestorbenen Brutschrank-Meerschweinchen eine allgemeine Ausbreitung der Tetanusbazillen, eine eigentliche Tetanussepticämie beobachtete. Möglicherweise ist auch für diesen Unterschied die erheblich geringere Temperatur unserer Brutschränke 34,5° gegen 40° anzuschuldigen.

B. Meerschweinchenversuche (siehe Tabelle II).

Gleichzeitig mit den Mäusen wurde eine Anzahl Meerschweinchen mit denselben Kulturen injiziert. Es sei gleich hier hervorgehoben, dafs die erhaltenen Resultate den von Vincent mitgeteilten nicht entsprechen, wie sie auch mit unseren, bei Mäusen erhaltenen Ergebnissen nicht übereinstimmen. Mit Ausnahme des ersten Versuches wurden sehr grofse Mengen Tetanussporen geimpft, und zwar 6 mal 0,25 und 2 mal sogar 1,0 ccm sporenreicher Kultur. Die letzteren 2 Tiere gingen an typischem Tetanus zugrunde; das Brutschranktier nach 5 Tagen, das bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrte schon nach 3 Tagen. Von den mit 0,25 ccm geimpften Tieren ist nur ein Brutschranktier gestorben. Es zeigte vom 6. Tage nach der Injektion eine Parese der hinteren rechten Extremität verbunden mit Spreizung derselben, hingegen konnten keine typischen tetanischen Krämpfe wahrgenommen werden. Der Tod erfolgte nach weiteren 6 Tagen, also 12 Tage nach der Injektion. Die Sektion erweist sich in bezug auf Tetanus negativ. Von den 5 weiteren mit 0,25 ccm geimpften Tieren, von denen eines über einen Monat, ein anderes 19 Tage lang im Brutschrank aufbewahrt wurde, zeigte keines Erscheinungen von Tetanus. Der Versuch 6 wird in der Tabelle nicht angeführt, weil das Brutschranktier 2 ½ Tage nach der Injektion ohne Tetanussymptome zu zeigen starb, vermutlich an Inanition. Das Kontrolltier blieb frei von Tetanus und lebte noch 1 Monat nach der Injektion.

Wir wollen aus diesen Versuchen nur den einen Schlufs ziehen, dafs eine Brutschranktemperatur von 35° auch bei dauernder Aufbewahrung der Tiere nicht genügt, um bei Meerschweinchen den von Vincent konstatierten Tetanus zu erzeugen. Da wir aus äufseren Gründen Temperaturmessungen und Blutuntersuchungen an Meerschweinchen nicht vornahmen, können wir die Ursache des abweichenden Ergebnisses nicht angeben.

Unsere Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Mäuse, die nach Injektion gröfserer Mengen toxinfreier Tetanussporen, einer Temperatur von

35° dauernd ausgesetzt werden, erkranken leichter an Tetanus als die gleichzeitig geimpften und in gewöhnlicher Temperatur befindlichen Kontrolltiere.

Von 10 Mäusen, die 4½ bis 22 Tage einer Temperatur von 35° ausgesetzt waren, sind 3 an Tetanus gestorben, und zwar alle 3 mit gröfseren Mengen (0,25 ccm) Tetanussporen geimpfte. Die übrigen 7, von denen zwei gleichviel (0,25 ccm) Tetanussporenaufschwemmung erhielten, die anderen alle weniger, blieben am Leben.

Von den 10 mit entsprechenden Mengen geimpften, bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrten Kontrolltieren starb kein einziges; eine Maus erkrankte an Tetanus, erholte sich aber wieder.

Eine Aufsentemperatur von 35° wirkt für das Auftreten von Tetanus bei Mäusen deutlich begünstigend.

Die Versuche an Meerschweinchen haben kein positives Resultat ergeben und gestatten eine Bestätigung der von Vincent mitgeteilten Befunde nicht. Ob die weniger hohe Brutschranktemperatur (35° gegen 40°) oder die länger dauernde Aufbewahrung oder andere Faktoren diesen Unterschied bedingt haben, können wir nicht entscheiden.

2. Versuche mit Streptokokken.

Die bei unseren Versuchen verwendeten Streptokokken verdanken wir der Freundlichkeit von Herrn Dr. med. F. B. Simon, der schon seit längerer Zeit im Zürcher Hygiene-Institut sich mit Studien über Streptokokken beschäftigt.

Die bei den meisten Mäuseversuchen benutzte Kultur stammt von einem Fall von Scarlatina und war längere Zeit durch Nährböden und Tiere geschickt worden. Besonders wertvoll war für uns die vorhandene aber geringe Virulenz für weifse Mäuse, welche uns bei entsprechender Dosierung gestattete,

die der normalen Temperatur ausgesetzten Tiere meist erst nach 2 bis 4 Tagen zu töten. Es standen uns 2 verschiedene Passagen, eine virulentere 3 und eine etwas weniger virulente 5, zur Verfügung. Beim 10. Mäuseversuch kam eine aus Passage 3 neu gewonnene Passage 4 zur Verwendung. Beim 9. Mäuse- und bei den Meerschweinchenversuchen benützten wir eine sehr virulente Kultur, S 124 bezeichnet (durch 124 Meerschweinchen geschickt); sie ist auch für Meerschweinchen virulent. Es wurden stets eintägige Bouillonkulturen verimpft. Alle gestorbenen Tiere wurden seziert und Kulturen aus der Impfstelle und dem Herzblut angelegt.

A. Versuche an Mäusen. Die Injektion erfolgte stets subkutan über der Schwanzwurzel. In einem Versuche wurde eine zweite Impfung intraperitoneal mit einer virulenteren Passage vorgenommen. Im ganzen sind 10 Versuche gemacht worden, von denen wir Versuch 2 und 5 ausschalten wollen. Bei Versuch 2 starben beide Tiere nicht nach der ersten Injektion, es wurde daher 2 Tage nachher eine zweite Impfung vorgenommen, nach welcher das bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrte Tier früher starb als das Brutschranktier. In Versuch 5 starb das Aufsentier ebenfalls, aber erst nach 13 Tagen, das andere blieb am Leben. Da die Sektion des Aufsentieres ein negatives Resultat in bezug auf Streptokokken ergab, läfst sich der Versuch nicht verwerten, der Tod war möglicherweise ein natürlicher.

In den 8 übrigen Versuchsreihen sind stets die Brutschranktiere früher gestorben als die Kontrolltiere bei gewöhnlicher Temperatur. Der Tod erfolgte:

Bei Brutschranktieren ½ bis 3 ½ Tage nach der Injektion;

Bei Kontrolltieren 1 ½ bis 8 Tage nach der Injektion.

Bei Versuch 6 starb das Kontrolltier überhaupt nicht, es ist dies auch der Versuch, bei dem die Brutschrankmaus die längste

Lebensdauer (mit Maus Str 4 A) von 3 $^1/_2$ Tagen aufweist. Es war überhaupt der Unterschied in der Lebensdauer nach der Injektion ein verschiedener, je nach Virulenz und Menge der geimpften Kultur. Neben Versuch 6 ist der Unterschied auch bei Versuch 4 sehr deutlich: Maus Str 4 A stirbt nach 3 $^1/_2$ Tagen, Maus Str 4 B erst nach 8 Tagen. Auch der 3. Versuch ist sprechend: die Brutschrankmaus ist nach $^1/_2$ Tage tot, die Kontrollmaus erst nach 3 Tagen. Gering ist dagegen die Differenz bei Versuch 9, bei welchem jene sehr virulente Kultur S 124 verwendet wurde.

B. Die Versuche an Meerschweinchen haben, ähnlich wie im vorhergehenden Abschnitt, kein deutliches Resultat ergeben. Dies rührt vor allem daher, dafs Meerschweinchen gegenüber Streptokokken sehr widerstandsfähig sind. Die von Herrn Dr. Simon besonders virulent gemachte Streptokokkenkultur S 124 mufste in gröfserer Menge injiziert werden und hat beide Tiere in weniger als 48 Stunden getötet. In diesem Versuche erhalten 2 Meerschweinchen 1 ccm Bouillonkultur intraperitoneal. Das Brutschranktier starb in der folgenden Nacht innerhalb 16 Stunden, das andere nach etwa 24 Stunden.

In einem zweiten Versuch wurden gleichzeitig Tetanussporen (0,25 ccm Sporenkultur 6 intramuskulär) und Streptokokken (0,5 S 125 intraperitoneal) injiziert. Die Tiere gingen sehr rasch ohne Tetanussymptome zugrunde, das Brutschranktier nach 26, das Kontrolltier nach 36 Stunden.

Fassen wir die Resultate unserer Streptokokkenversuche zusammen, so sehen wir folgendes:

Bei weifsen Mäusen verläuft die experimentelle Streptokokkeninfektion bei hoher Aufsentemperatur (35°) schneller als bei Zimmertemperatur.

Unsere Resultate an Meerschweinchen lauten ähnlich, sind aber für eine bestimmte Schlufsfolgerung zu wenig zahlreich.

3. Versuche mit nachträglicher Streptokokkeninfektion an mit toxinfreien Tetanussporen injizierten Tieren.

Die Mischinfektion ist schon von Vaillard und Vincent und seitdem von vielen anderen Autoren als prädisponierendes Moment bei der Tetanusinfektion bezeichnet worden. Nach dem deutlich positiven Ausfall unserer Streptokokkenversuche an Mäusen stellten wir uns zur Aufgabe, die Wirkung einer nachträglichen Streptokokkeninfektion bei mit toxinfreien Tetanussporen infizierten Tieren zu prüfen, und das Verhalten so behandelter Tiere bei höherer Aufsentemperatur zu untersuchen. Eine nachträgliche Nachforschung in der Literatur ergab, dafs in ihren ersten Versuchen Vaillard und Vincent auch schon Versuche mit Streptokokken nach Tetanusinjektion gemacht hatten. Die Verfasser erwähnen nur den das Auftreten des Tetanus begünstigenden Einflufs der gleichzeitigen Infektion mit Prodigiosus, während sie nach Injektion von Streptokokken sowohl wie von Bact. Friedländer, Staphylococcus aureus und B. subtilis einen den Ausbruch des Tetanus fördernden Einflufs nicht beobachten konnten.

A. Mäuse. Unsere Versuche wurden so vorgenommen, dafs Brutschrank- und Laboratoriumsmäuse verschieden lange Zeit nach der Injektion von toxinfreien Tetanussporen mit eintägigen Streptokokken-Bouillonkulturen injiziert wurden. Verwendet wurden die nämlichen Kulturen und Passagen, die wir auch zu den Streptokokkenreinversuchen benutzten; wir verweisen daher auf das an jener Stelle darüber Gesagte. Auch bei diesen Mischversuchen kam es sehr darauf an, wie dies ebenfalls schon bei den Versuchen mit Streptokokkenreinkulturen hervorgehoben wurde, die Virulenz sowohl wie die Menge der verwendeten Streptokokken genau zu dosieren. Wie aus der beigegebenen Tabelle IV hervorgeht, haben die meisten Tiere, mit vier Ausnahmen, nur eine einmalige Injektion von Streptokokken erhalten und sind wenige Tage nachher gestorben. Diejenigen Tiere, die nach der ersten Streptokokkeninjektion nicht starben,

wurden zum zweitenmal (Maus T 5 B sogar 4 mal) mit Streptokokken infiziert. Trat der Tod sehr rasch nach der Impfung mit Streptokokken ein, so kam es nicht zu Erscheinungen von Tetanus (wie bei 7 A und B auch bei 1 A). War jedoch zwischen der Injektion von Streptokokken und dem Tod ein Zwischenraum von $1\frac{1}{2}$ Tagen, so entwickelte sich in der Regel ein typischer Tetanus.

Es ist bekannt, dafs Tetanussporen sehr lange Zeit im Organismus lebensfähig sind. So berichten Vaillard und Rouget von einem Fall, wo bei einem Meerschweinchen vier Monate von der Impfung mit Sporen bis zum Ausbruch des Tetanus verstrichen sind. In unseren Versuchen haben wir zwischen der Injektion von Tetanussporen und der Impfung mit Streptokokken verschieden lange Fristen verstreichen lassen: in einem Versuch (11) gaben wir Tetanussporen und Streptokokken gleichzeitig, bei den anderen in Abständen von 3 bis 22 Tagen.

Bei 6 Tieren von 18 trat kein Tetanus auf. Das sind die Tiere, die innerhalb 24 Stunden nach der Streptokokkeninjektion starben, ferner ein Aufsentier (15 B), das vier Tage nach der Streptokokkeninjektion starb, und endlich das Aufsentier 5 B, das vier Injektionen von Streptokokken ertrug. Eine vergleichende Betrachtung der Brutschranktiere und der Aufsentiere ergibt, dafs der Tetanus stets früher bei den Brutschranktieren wie bei den Aufsentieren ausbrach. Ferner ist hervorzuheben, dafs sämtliche Brutschranktiere gestorben sind, während ein Aufsentier am Leben blieb.

Das Auftreten des Tetanus ist unabhängig von der Menge der injizierten Sporen; es haben sowohl mit 0,01 als auch mit 0,25 ccm geimpfte Tiere nach der Streptokokkeninjektion Tetanussymptome gezeigt.

Diese Versuche beweisen, dafs eine nachträgliche Infektion mit Streptokokken das Auftreten von Tetanus begünstigt und dafs der Tetanus rascher bei in höherer Temperatur sich befindenden Tieren als

bei den bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrten zustande kommt.

Diese Versuche bestätigen zugleich die in den zwei früheren Abschnitten mitgeteilten Resultate, dafs die Injektion von Tetanus sowohl als auch von Streptokokken bei Brutschranktieren rascher zum Tode führt als bei den Kontrolltieren.

Bei den Sektionen war es ein häufiger Befund, dafs sich an der Impfstelle Abszesse von Streptokokkenreinkultur fanden. Wir werden auf die Bedeutung dieser Tatsache bei den Schlufsfolgerungen noch zurückkommen.

B. Meerschweinchen. Im ganzen wurden fünf Versuche vorgenommen. Ähnlich wie in den weiter oben geschilderten Mäuseversuchen waren auch hier verschieden lange Zeit nach der Impfung mit Tetanussporen Streptokokkeninjektionen vorgenommen worden, in einem der fünf Versuchspaare wurden beide Mikroorganismen gleichzeitig geeimpft. Ein positives Resultat ergaben diese Versuche nicht. Die für Mäuse wenig virulenten Streptokokkenkulturen 3 und 5 waren für Meerschweinchen zu wenig virulent und führten daher nicht zu Tetanus. Es wurden daraufhin einige Versuche mit Streptokokkenstamm S 124 vorgenommen, auch diese aus einer Gelatinestichkultur angelegten Bouillonkulturen erwiesen sich als zu wenig virulent. Wir entschlossen uns daraufhin, frisch gewonnene Passage S 125 in gröfserer Menge (0,5 und 1,0 ccm) intramuskulär zu verwenden. Diese hohen Dosen töteten aber die Tiere meist innert 24 Stunden. Nachdem ein Versuchspaar nach intramuskulärer Injektion von 1,0 ccm S 125 am Leben geblieben war, versuchten wir die intraperitoneale Injektion von 0,5 derselben Passage; beide Tiere gingen aber in 24—32 Stunden zugrunde. Die Fristen waren für das Auftreten der Tetanussymptome zu kurz.

Die Resultate an Meerschweinchen sind negative.

Im Anschlufs an die oben mitgeteilten Ergebnisse unserer Versuche seien uns einige **Schlufsfolgerungen** erlaubt:

Unsere Versuche beweisen übereinstimmend, dafs die Infektion mit toxinfreien Tetanussporen bei erhöhter

Aufsentemperatur von 35° etwas sicherer zum Tode führt, als wenn die Tiere bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt werden. Unsere Resultate sind allerdings nicht so überzeugend wie die von Vincent mitgeteilten, namentlich haben unsere Meerschweinchenversuche kein deutlich positives Resultat ergeben. Der Hauptunterschied zwischen der Versuchsanordnung Vincents und unserer besteht darin, dafs jener Autor den Einflufs einer kurzdauernden beträchtlichen Temperaturerhöhung von 40° studierte, während wir die dauernde Einwirkung einer Aufsentemperatur von 34 bis 35° prüften.

Noch deutlicher als die Versuche mit Tetanus sind die Ergebnisse unserer Versuche mit Streptokokkenreinkulturen an weifsen Mäusen; sie beweisen den die Streptokokkeninfektion begünstigenden Einflufs einer erhöhten, dauernd einwirkenden Aufsentemperatur von 35°. Im Anschlufs an unsere Resultate sei nur noch darauf hingewiesen, dafs auch beim Menschen möglicherweise die höhere Temperatur den Verlauf einer Streptokokkeninfektion beschleunigend beeinflufst und dafs bei dieser Infektion auf jeden Fall das Vorhandensein eines länger dauernden Fiebers nicht ohne Belang ist. Wir möchten nur auf die Wünschbarkeit weiterer Untersuchungen in der angegebenen Richtung hinweisen und sind uns wohl bewufst, dafs unsere Versuchsanordnung, wie dies Lubarsch für zahlreiche andere ähnliche Versuche, speziell für die Milzbrandversuche bei erhöhter Temperatur an Kaltblütern nachwies, natürlichen Verhältnissen nicht völlig entsprechen. Sie schliefsen leider allzuoft eine schwere Schädigung des Organismus in sich.

Die nachträgliche Infektion mit Streptokokken bei durch toxinfreie Tetanussporen infizierten weifsen Mäusen hat ergeben, dafs die Streptokokken einen das Auftreten des Tetanus begünstigenden Einflufs ausüben. Mengen von Tetanussporen, welche bei den Tetanusreinversuchen auch bei Brutschranktieren nicht einmal zum Ausbruch von Tetanussymptomen geführt haben, genügten zu einem letal verlaufenden Tetanus, sobald Streptokokken gegeben wurden. Diese Versuche bestätigen so-

wohl die Tetanus- als die Streptokokkenreinversuche, indem auch hier einerseits die der erhöhten Temperatur ausgesetzten Tiere stets früher Tetanussymptome aufwiesen als die Kontrolltiere. In drei Versuchspaaren kam es sogar nur bei den Brutschranktieren zu Tetanus. Anderseits starben auch die Brutschranktiere vor den Kontrolltieren.

Es kommt diesen Versuchen aber auch noch eine andere sehr wichtige Bedeutung zu. Nach Injektion von Streptokokken treten bei unseren Versuchstieren Tetanussymtome auf. Ähnlich wie dies Vincent bei seinen Chininversuchen ausführte, würde man auch hier bei Unkenntnis der Vorgeschichte geneigt sein, den Tetanus der letzten Injektion zuzuschreiben, während es sich umgekehrt um ein Virulentwerden von Tetanussporen handelt, die sonst symptomlos ertragen und mit der Zeit vernichtet worden wären. Bei der Sektion fand sich an der Injektionsstelle meist ein Abszess von Streptokokken in Reinkultur vor. Es drängt sich ohne weiteres ein Vergleich mit den Fällen von Tetanus beim Menschen auf, bei denen ein kleinerer oder gröfserer Eiterherd gefunden und dann als Eingangspforte des Tetanus angesprochen wird, auch wenn der Nachweis von Tetanusbazillen bakteriologisch nicht gelingt.

Auf Grund unserer Versuche müssen wir die Frage aufwerfen, ob nicht auch beim Menschen Verhältnisse vorliegen können, wie wir sie bei den Mäusen künstlich erzeugt haben. Tetanusbazillen sind imstande, im Körper des Warmblüters längere Zeit lebensfähig zu bleiben. Die Annahme, dafs ein in einem Fall von Tetanus vorgefundener Abszess stets die Eingangspforte ist, läfst sich nicht immer experimentell begründen. Wir müssen vielmehr angesichts unserer Versuchsergebnisse die Möglichkeit im Auge behalten, dafs eine nachträgliche eiternde Infektion das Manifestwerden einer vielleicht an anderem Ort und vor längerer Zeit stattgehabten, sonst symptomlos gebliebenen Infektion mit Tetanussporen zur Folge hat.

Am Schlusse meiner Arbeit angelangt, erfülle ich gerne die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten ehemaligen Chef, Herrn

Prof. Dr. W. Silberschmidt, meinen herzlichsten Dank auszusprechen, sowohl für die Anregung zu dieser Arbeit wie auch für die stete Förderung bei der Ausführung und beim Abschlufs derselben.

Tabelle I.

Tetanusversuche an Mäusen.

Injektion von erhitzten Tetanussporen.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Bezeichnung	Gewicht	Sporenaufschwemmung	Injizierte Menge	Symptome	Beginn des Tetanus nach	Tod nach	Beobachtungszeit	Bemerkungen
	g	Nr.	ccm		Tage			
T 4 A	25	2	0,05	o. B.	—	—	13	—
T 4 B	23	2	0,05	o. B.	—	—	19	—
T 5 A	20	2	0,01	o. B.	—	—	9	—
T 5 B	17	2	0,01	o. B.	—	—	9	—
T 6 A	18	2	0,1	o. B.	—	—	10	—
T 6 B	15	2	0,1	o. B.	—	—	10	—
T 7 A	19	4	0,1	o. B.	—	—	20	—
T 7 B	19	4	0,1	o. B.	—	—	20	—
T 8 A	21	4	0,25	Am 4. Tag Tetanus	4	$4^1/_2$	$4^1/_2$	Sektion o. B. Kulturen subkut. positiv.
T 8 B	22	4	0,25	vom 10. bis 25. Tag Tetanus	10	—	40	31. XII. 06 lebt.
T 9 A	15	4	0,01	o. B.	—	—	22	—
T 9 B	15	4	0,01	o. B.	—	—	22	—
T 10 A	20	4	0,25	am 5. Tag Tetanus	5	$7^1/_2$	$7^1/_2$	Sektion o. B Kultur subkutan positiv.
T 10 B	17	4	0,25	o. B.	—	—	13	—
T 13 A	18	5	0,25	o. B.	—	—	15	—
T 13 B	16	5	0,25	o. B.	—	—	15	—
T 14 A	14	6	0,25	o. B.	—	—	14	—
T 14 B	14	6	0,25	o. B.	—	—	14	—
T 15 A	24	6	0,15	o. B.	—	—	3	—
T 15 B	22	6	0,15	o. B.	—	—	3	—
T 16 A	20	6	0,25	am 8. Tage Tetanus	8	12	12	Sektion o. B Kultur subk. positiv.
T 16 B	18	6	0,25	o. B.	—	—	20	31. XII. 06 lebt.

A = Brutschranktiere. B = Kontrolltiere. o. B. = ohne Besonderheit.

Tabelle II.

Tetanusversuche an Meerschweinchen.

1 Bezeichnung	2 Gewicht g	3 Sporenkultur Nr.	4 Injizierte Menge ccm	5 Symptome	6 Beginn des Tetanus nach Tage	7 Tod nach Tage	8 Beobachtungszeit Tage	9 Bemerkungen
T 2 A	330	2	0,05	o. B.	—	—	9	—
T 2 B	270	2	0,05	o. B.	—	—	9	—
T 3 A	680	2	0,25	v. 6. Tage an rechte hint. Extr. steif. Kein typ. Tetanus.	6	$12^1/_2$	$12^1/_2$	Kultur negativ.
T 3 B	480	2	0,25	o. B.	—	—	17	—
T 4 A	450	4	0,25	o. B.	—	—	19	—
T 4 B	405	4	0,25	o. B.	—	—	19	—
T 5 A	360	4	0,25	o. B.	—	—	35	—
T 5 B	340	4	0,25	o. B.	—	—	35	—
T 7 A	275	5	1,0	Tetanus am 4. Tag.	$3^1/_2$	5	5	Sektion o. B. subkutan, Kultur positiv; Milz u. Herz negativ.
T 7 B	250	5	1,0	Tetanus am 3. Tag.	2	3	3	Sektion o. B. subkutan, Kultur positiv, andere negativ.

Tabelle

Tetanus-Streptokokken-

Injektion von erhitzten Tetanussporen; nach verschieden langer

Bezeichnung	Gewicht	Injektion von Tetanus		Injektion von Streptokokken			Symptome
	g	Menge ccm	Kultur Nr.	nach Tetanus Tage	Menge ccm	Kultur Nr.	
T 4 A	25	0,05	Sporen-kultur 2	13	0,1 subkut.	5	kein Tetanus
T 4 B	23	0,05	2	13	0,1 »	5	Tetanus. siehe Bem.
T 5 A	20	0,01	2	9	0,25 »	5	Tetanus.
T 5 B	17	0,01	2	9 20 27 35	0,25 » 0,5 » 0.2 intraper. 0,3 »	5 5 3 4	kein Tetanus lebt.
T 6 A	18	0,1	2	10	0,1 subkut.	3	Tetanus.
T 6 B	15	0,1	2	10 17	0,1 » 0,25 »	3 5	Tetanus.
T 7 A	19	0,1	4	19 27	0,25 » 0,1 »	3 S 125	kein Tetanus!
T 7 B	19	0,1	4	19 27	0,25 » 0,1 »	3 S 125	Tetanus.
T 9 A	15	0,01	4	22	0,25 »	4	Tetanus.
T 9 B	15	0,01	4	22	0,25 »	4	Tetanus.
T (Str) 11 A	34	0,01	4	gleichzeitig	0,05 »	3	Tetanus.
T (Str) 11 B	34	0,01	4	gleichzeitig	0,05 »	3	Tetanus.
T 13 A	18	0,25	5	15	0,25 »	4	Tetanus.
T 13 B	16	0,25	5	15	0,25 »	4	kein Tetanus.
T 14 A	14	0,25	6	13	0,25 »	4	Tetanus.
T 14 B	14	0,25	6	13	0,25 »	4	Tetanus.
T 15 A	24	0,15	6	3	0,2 »	4	Tetanus.
T 15 B	22	0,15	6	3	0,2 »	4	kein Tetanus

IV.

Versuche an Mäusen.

Zeit Injektion von frischer Streptokokken-Bouillonkultur.

Zahl der Tage bis zum Ausbruch des Tetanus seit d. Injektion von		Zahl der Tage bis zum Tod seit der Injektion von		Sektion	Kulturen *)	Bemerkungen	Bezeichnung
Tetanus	Streptokokken	Tetanus	Streptokokken				
—	—	13½	½	o. B.	subk. * Str. Herz ° Str.	—	T 4 A
19	6	19½	6½	an Injektionsstelle großer subkut. Abszeß.	subk. † Str. " ° Tetanus Herz * Str.	Wird mit der Streptokokkeninjektion in den Brutschrank verbracht und bleibt bis zum Tod.	T 4 B
12	3	12	3	o B.	subk. † Str. " ° Tetanus Milz † Str.	—	T 5 A
—	—	—	—	—	—	Lebt. 31. 12. 06 nach 54 Tagen.	T 5 B
14	4 8	14½	4½	subk. Abzsefs	subk. † Str. " ° Tetanus Herz † Str.	Subkut anaerob. Kultur wird einer Maus T 6 A 2 verimpft. Tetanus!	T 6 A
18	1	18½	8½ 1½	do.	subk. † Str. Herz * Str.	—	T 6 B
—	—	27½	8½ ½	o. B.	subk. † Str. Herz † Str.	1. Streptokokkeninjekt. unwirksam. 2. Streptokokkeninjekt. tötet zu rasch.	T 7 A
—	—	27½	8½ ½	"	subk. † Str. Herz † Str.	Wie T 7 A.	T 7 B
25	3	26	4	subk. Abszefs	subk. † Str. " * Tetanus Herz * Str.	—	T 9 A
26	4	27	5	do.	subk. † Str. Herz * Str.	—	T 9 B
3	3	4	4	do.	subk. † Str. " ° Tetanus Herz * Str.	Anaerobe Kultur aus subkut. Abszeß fraglich. Tierversuch: Tetanus	T (Str) 11 A
4	4	4½	4½	do.	subk. † Str. Herz * Str	—	T (Str) 11 B
16	1	16½	1½	do.	subk. † Str. Herz † Str.	—	T 13 A
—	—	16	1	o. B.	Herz † Str.	—	T 13 B
15	2	16	3	subk. Abszefs	subk. † Str. Herz * Str.	—	T 14 A
19	6	20½	7½	do.	subk. † Str. Herz * Str.	—	T 14 B
4	1	6½	3½	do.	subk † Str. " * Tetanus Herz * Str.	In bezug auf Streptokokken behandelt wie Maus Str 10 A (Tab. III).	T 15 A
—	—	7	4	do.		Wie Maus Str 10 B in bezug auf Str.	T 15 B

*) Str = Streptokokken. ° = wenig. * = mittel. † = sehr viel.

Tabelle III.

Streptokokkenversuche an Mäusen.

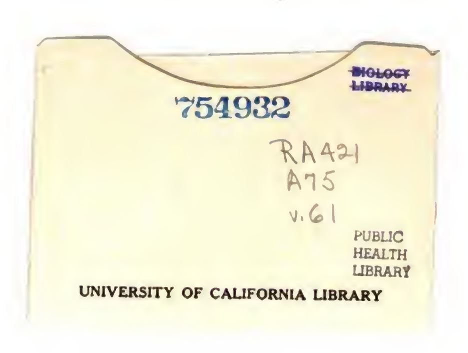
Injektion von frischen Bouillonkulturen.

1 Bezeichnung	2 Gewicht g	3 Kultur Nr.	4 Menge ccm	5 Symptome	6 Tod nach Tagen	7 Differenz	8 Kulturen	9 Bemerkungen
Str 1 A	22	5	0,2	o. B.	$\frac{1}{2}$	mindestens 5 Tage vor B	positiv subkut. u. Herz	—
Str 1 B	20	5	0,2	nach 5 Tagen noch völlig munter.	siehe Bemerkung	—	Herz positiv	Nach 5 Tagen noch völlig gesund, also erste Injekt. überlebt, dann zweite Injekt. v. Passage 3 0,2 intraper. u. nach $\frac{1}{2}$ Tage † ($5\frac{1}{2}$ Tage nach erst. Injektion).
Str 2 A	19	5 3	0,2 0,2	1. Injektion überlebt, daher 2. intraperiton.	$5\frac{1}{2}$ $3\frac{1}{2}$	2 Tage nach B	positiv	—
Str 2 B	17	5 3	0,2 0,2	dito wie Str. 2 A	$5\frac{1}{2}$ $3\frac{1}{2}$	—	»	—
Str 3 A	19	3	0,1	o. B.	$\frac{1}{2}$	$2\frac{1}{2}$ Tage vor B	»	—
Str 3 B	21	3	0,1	»	3	—	»	—
Str 4 A	23	3	0,05	»	$3\frac{1}{2}$	$1\frac{1}{2}$ Tage vor B	»	—
Str 4 B	23	3	0,05	»	8	—	»	—
Str 5 A	17	5	0,1	»	—	—	—	31. 12. 06 lebt.
Str 5 B	16	5	0,1	»	13	—	negativ	—
Str 6 A	20	5	0,25	»	$3\frac{1}{2}$	mindestens 22 Tage vor B	positiv	—
Str 6 B	20	5	0,25	o. B. lebt noch nach 15 Tagen	—	—	—	31. 12. 06 lebt.
Str 7 A	20	3	0,25	o. B.	$\frac{1}{2}$	1 Tag vor B	positiv	—
Str 7 B	20	3	0,25	»	$1\frac{1}{2}$	—	»	—
Str 8 A	20	3	0,5	»	$\frac{1}{2}$	1 Tag vor B	»	—
Str 8 B	20	3	0,5	»	$1\frac{1}{2}$	—	»	—
Str 9 A	21	S 124	0,02	»	1	$\frac{1}{2}$ Tag vor B	»	S. 124 sehr virulente Kultur, die Meerschw. tötet
Str 9 B	19	S 124	0,02	»	$1\frac{1}{2}$		»	wie Str 9 A.
Str 10 A	27	4	0,2	»	$\frac{3}{4}$	$1\frac{1}{4}$ Tag vor B		—
Str 10 B	24	4	0,2	»	2		»	—

Literatur.

1. Trommsdorff, Archiv für Hygiene, Bd. LIX, 1906.
2. Pasteur u. Joubert, Bull. de l'Académie de médecine, Paris 1878.
3. Wagner, Wratsch 1890 Ref. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 9, 1891, S. 322.
4. Trapeznikoff, Annales de l'Institut Pasteur, T. V. 1891, S. 362.
5. Lode, Archiv für Hygiene, Bd. XXVIII, 1897, S. 344.
6. Sawtschenko, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 9, 1891, S. 473, 493, 528.
7. Ernst, Zieglers Beiträge, Bd. 8.
8. Gibier, Comptes rendus de l'Académie des sciences, T. 94, 1882, S. 1605.
9. Metschnikoff, Ann. de l'Institut Pasteur, T. I, 1887.
10. Petruschky, Zieglers Beiträge, Bd. 3, 1888.
11. Lubarsch, Fortschritte der Medizin, 1888 und 1890, Zeitschr. f. klin. Medizin, Bd XIX.
12. Nutall, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 4, 1888, S. 353.
13. Fahrenholz, Beiträge zur Kritik der Metschnikoffschen Phagocytenlehre, Diss. Königsberg, 1889.
14. Voswinkel, Fortschritte der Medizin, 1890.
15. Dieudonné, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 9, 1894, S. 492.
16. Lipari, Il Morgagni, 1888 August-Oktober. Ref.: Baumgarten Jahresbericht, 1888, S. 60.
17. Platania, Giorn. internat. delle science medic., 1889, S. 344. Ref.: Baumgartens Jahresbericht, 1889, S. 89.
18. Walther, Wratsch 1890. Lubarsch u. Ostertag, Ergebnisse der allg. Pathologie und pathog. Anatomie, Bd. 1, S. 255.
19. Dürk, Deutsch. Archiv f. klin. Medizin, Bd. 58, S. 368.
20. Rovighi, Prager med. Wochenschr., Bd. 17, 1892, S. 291. Ref.: Zentralblatt f. Bakt., 1892, S. 363.
21. Löwy u. Richter, Virchows Archiv, Bd. 145, 1896, S. 49.
22. Fischl, Prager med. Wochenschrift, Bd. 22, 1897. Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. 18, 1897.
23. Pawlowsky, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 33, 1900, S. 261.
24. Engelhardt, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 28, 1898, S. 239.
25. Fermi u. Salsano, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XII, 1892, S. 750.
26. Graziani, Zentralbl. f. Bakt., Orig.-Bd. 42, 1906, S. 633, 755.
27. Wyssokowitsch, zit. nach Flügge »Mikroorganismen«, 2. Aufl., S. 523.
28. Filehne, Journal of Physiol., Vol. XVII. 1894/95.

29. Vaillard u. Vincent, Annales de l'Institut Pasteur, T. V, 1891, Nr. 1, zit. nach v. Lingelsheim.
30. Vaillard u. Rouget, Annales de l'Institut Pasteur, T. VI, 1892, Nr. 6. Ref. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 13, 1893, S. 147.
31. Vaillard, Annales de l'Institut Pasteur, T. VI, 1892, Nr. 10, S. 676.
32. Vincent, Annales de l'Institut Pasteur, T. XVIII, 1904, S. 450.
33. Courmont u. Doyon, Comptes rendus de la Société de Biologie, 1898
34. Thalmann, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 33, 1906, S. 387.
35. Vincent, Annales de l'Institut Pasteur, T. XVIII, 1904, S. 748.


BIOLOGY
LIBRARY
754932
RA421
A75
v.61
PUBLIC
HEALTH
LIBRARY
UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY



